



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITOS DA OZONOTERAPIA NO MANEIO DA DOENÇA RENAL CRÓNICA
EM FELINOS

JOANA LUCINA TEIXEIRA RIBEIRO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Mário Alexandre Gonçalves
Quaresma

Doutor Fernando António da Costa
Ferreira

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

ORIENTADORA

Dra. Andreia Joana de Oliveira
Galiza Lopes

CO-ORIENTADOR

Doutor Fernando António Costa
Ferreira

2019

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITOS DA OZONOTERAPIA NO MANEIO DA DOENÇA RENAL CRÓNICA
EM FELINOS

JOANA LUCINA TEIXEIRA RIBEIRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Mário Alexandre Gonçalves
Quaresma

Doutor Fernando António da Costa
Ferreira

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

ORIENTADORA

Dra. Andreia Joana de Oliveira
Galiza Lopes

CO-ORIENTADOR

Doutor Fernando António Costa
Ferreira

2019

LISBOA

Agradecimentos

À minha mãe pelo apoio incondicional e pelos sacrifícios feitos ao longo destes anos para que eu pudesse seguir um sonho. Ao meu pai por me ter ajudado a escolher este caminho.

À equipa do Hospital Veterinário da Madeira pela oportunidade em realizar o estágio, em especial à Dra. Joana por me ter orientado neste percurso. Um grande obrigada à Dra. Lucília e Dra. Sofia pela confiança e pelos conhecimentos partilhados. À restante família Vetmedis por toda a simpatia e apoio e ao longo destes meses.

Ao professor Fernando Ferreira pela paciência e ajuda na elaboração deste trabalho.

Ao Diogo e à Debes por estarem presentes em todos os momentos da minha vida e principalmente pela motivação nos momentos mais difíceis.

À minha família FMV por 6 anos de amizade e companheirismo, por contribuírem para a minha evolução como pessoa e tornarem estes anos mais fáceis.

À Mimi por me motivar todos os dias a percorrer este caminho.

EFEITOS DA OZONOTERAPIA NO MANEIO DA DOENÇA RENAL CRÓNICA EM FELINOS

Resumo

A doença renal crónica (DRC) é uma doença com grande incidência na medicina felina, principalmente em gatos idosos. É uma doença de carácter progressivo, com tratamento prolongado e que está dependente de uma monitorização constante. A falta de resultados satisfatórios em algumas situações torna necessária, não só a procura de métodos de diagnóstico que identifiquem a doença mais cedo, como tratamentos mais eficazes, que controlem e previnam a progressão da mesma. A ozonoterapia é um tratamento relativamente recente, que tem mostrado resultados favoráveis na medicina humana, e que começa a ser utilizada em medicina veterinária. O uso de ozono medicinal tem despertado interesse nesta área, devido às interações que manifesta no organismo, e por tal acontecer com escassos efeitos secundários. Este trabalho teve o intuito de averiguar se a introdução da ozonoterapia, como uma terapêutica complementar, contribui para uma melhor manutenção da DRC. O ozono foi veiculado numa solução de lactato de Ringer e foi administrado semanalmente em 4 pacientes durante 4 semanas. Para avaliação dos efeitos foi quantificada a concentração da creatinina plasmática durante o período de tratamento e pós tratamento. Os resultados obtidos não permitiram observar diferenças estatisticamente significativas entre os valores de creatinina pré e pós-ozonoterapia. Dado o tamanho da amostra, os resultados evidenciados não permitem extrapolar conclusões, pelo que não foi possível comprovar que esta terapêutica contribuiu para uma melhor manutenção da doença.

Palavras Chave: Doença Renal Crónica; Ozonoterapia; Tratamento; Gatos

EFFECTS OF OZONE THERAPY IN THE MANEGEMENT OF CHRONIC KIDNEY DISEASE IN CATS

Abstract

Chronic kidney disease (CKD) is a relevant illness in feline medicine, especially in older cats. It's a progressive condition, requiring long treatment periods and constant monitoring. The lack of impactful results, in some cases, provides the need, not only, to search for diagnostic methods for an early diagnose, but also more effective treatments, to control and prevent its progression. The ozone therapy is a relatively new treatment, which has shown promising results in human medicine, and has been starting to be used in veterinary medicine. The medicinal ozone has interest in this area because of its interactions in the body and for its barely existing side effects. This study aimed to observe whether the introduction of ozone therapy, as a complementary therapy, contributes to better maintenance of CKD. The ozone was conveyed in a Ringer's lactate solution and administered weekly in 4 patients throughout 4 weeks. To evaluate the effects, the plasma creatinine concentration was quantified during the treatment period and after treatment. The results obtained did not allow to observe statistically significant differences amongst pre and post ozone therapy on creatinine levels. Considering sample size, results shown do not allow extrapolating results, for it is not possible to verify that this therapy improves disease maintenance

Key Words: Chronic Kidney Disease; Ozone Therapy; Treatment; Cats

Índice

I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO	1
II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
1. OZONO	3
1.1. HISTÓRIA.....	3
1.2. MECANISMO DE AÇÃO	4
1.3. AÇÕES BIOLÓGICAS.....	5
1.3.1. ERO	6
1.3.2. POL	6
1.4. CONCENTRAÇÕES.....	7
1.5. TÉCNICAS DE ADMINISTRAÇÃO	7
1.5.1. TÉCNICAS SISTÉMICAS.....	8
1.5.2. TÉCNICAS TÓPICAS	9
1.6. APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS.....	10
1.7. TOXICIDADE	11
1.8. CONTRAINDICAÇÕES	12
2. RIM.....	13
2.1. ANATOMIA RENAL	13
2.2. FUNÇÃO RENAL	13
2.2.1. FILTRAÇÃO GLOMERULAR	13
2.2.1.1. AVALIAÇÃO DA FILTRAÇÃO GLOMERULAR.....	15
2.2.2. MARCADORES DE TFG	15
2.2.2.1. UREIA	16
2.2.2.2. CREATININA	16
2.2.2.3. SDMA.....	16
2.2.2.4. FGF-23	17
2.2.2.5. CISTATINA C.....	17
2.3. DOENÇA RENAL CRÓNICA.....	18
2.3.1. PATOFISIOLOGIA	18
2.3.1.1. HIPERFILTRAÇÃO.....	19
2.3.1.2. COMPLICAÇÕES SECUNDÁRIAS	19
2.3.1.2.1. PROTEINURIA	19
2.3.1.2.2. HIPERTENSÃO GLOMERULAR	20
2.3.1.2.3. POTÁSSIO	20
2.3.1.2.4. HIPERPARATIROIDISMO RENAL SECUNDÁRIO.....	21
2.3.1.2.5. ANEMIA	21
2.3.1.2.6. ACIDOSE METABÓLICA.....	21
2.3.1.2.7. HIPOXIA	22
2.3.1.2.8. STRESS OXIDATIVO	22
2.3.2. DIAGNÓSTICO.....	22
2.3.2.1. HISTÓRIA CLÍNICA E EXAME FÍSICO.....	22
2.3.2.2. ANÁLISES SANGUÍNEAS.....	23
2.3.2.3. URINANÁLISE E CULTURA URINÁRIA	24
2.3.2.4. DIAGNOSTICO IMAGIOLÓGICO	24
2.3.2.5. BIÓPSIA.....	25
2.3.3. ESTADIAMENTO DA DOENÇA RENAL CRÓNICA.....	25
2.3.4. TRATAMENTO.....	28
2.3.4.1. FLUIDOTERAPIA	28

2.3.4.2.	MANEIO ALIMENTAR	28
2.3.4.3.	CONTROLO DO VÓMITO.....	29
2.3.4.4.	TRATAMENTO DA ANEMIA	29
2.3.4.5.	TRATAMENTO DO HIPERPARATIROIDISMO RENAL SECUNDÁRIO	30
2.3.4.6.	TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO.....	30
2.3.4.7.	TRATAMENTO DE SUPORTE	30
2.3.4.8.	DIÁLISE	31
2.3.4.9.	TRANSPLANTE RENAL.....	31
2.3.5.	MONITORIZAÇÃO	31
2.3.6.	PROGNÓSTICO	32
III - ESTUDO: EFEITOS DA OZONOTERAPIA NO MANEIO DA DOENÇA RENAL CRÓNICA EM FELINOS		33
1.	OBJETIVO	33
2.	MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1.	PARTICIPANTES	33
2.2.	METODOLOGIA.....	34
2.3.	PROTOCOLO TERAPÊUTICO.....	34
2.4.	MEDIÇÕES DE CREATININA.....	35
2.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
3.	RESULTADOS	35
4.	DISCUSSÃO	40
5.	CONCLUSÃO	41
IV – BIBLIOGRAFIA		42

Lista de Figuras

Figura 1 - Principais efeitos terapêuticos do ozono.....	5
Figura 2 – Anatomia do glomérulo renal.....	14

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Vias de administração de ozonoterapia	8
Tabela 2 - Estadiamento da Doença Renal Crônica consoante as concentrações de creatinina plasmática.....	26
Tabela 3 - Sub-estadiamento da DRC baseado na proteinúria	27
Tabela 4 - Sub-estadiamento pela pressão sanguínea).....	27
Tabela 5 - Caracterização do grupo estudado	36

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Concentrações de creatinina do Felino 1	36
Gráfico 2 - Concentrações de creatinina do Felino 2	37
Gráfico 3 - Concentrações de creatinina do Felino 3	38
Gráfico 4 - Concentrações de creatinina do Felino 4	39
Gráfico 5 - Valores médios das medições dos animais estudados.....	39

Lista de Abreviaturas e Siglas

2,3 DPG – 2,3 Difosfoglicerato

4-HNE – 4-Hidroxinonenal

AEPROMO – Associação Espanhola de Profissionais Médicos de Ozonoterapia

ATP – Adenosina Trifosfato

DRC – Doença Renal Crónica

eNOS – Óxido Nítrico sintase endotelial

EPO – Eritropoietina

ERO – Espécies Reativas de Oxigénio

G6PD – Glucose-6-Fosfato Desidrogenase

GM-CSF – Fator Estimulador de Colónias Granulócito-Macrófago

GSH – Glutathione Reduzida Livre

GSH-Px – Glutathione Peroxidase

H₂O₂ – Peróxido de Hidrogénio

HO[•] - Hidroxilo

HO-1 – Heme-Oxygenase

IECAs – Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina

IFN β – Interferão Beta

IFN γ – Interferão Gama

IL– Interleucina

IRIS - International Renal Interest Society

FGF-23 – Fator de crescimento de fibroblasto 23

Kg – Quilograma

L – Litro

M1A – Medição 1 no intervalo A

M2A – Medição 2 no intervalo A

M3A – Medição 3 no intervalo A

M4A – Medição 4 no intervalo A

M1B – Medição 1 no intervalo B

M2B – Medição 2 no intervalo B

M3B – Medição 3 no intervalo B

M4B – Medição 4 no intervalo B

mg – Miligrama

ml – Mililitro

min – Minuto

NO – Óxido Nítrico

O₂⁻ - Superóxido

POL – Produtos de Oxidação de Lípidos

PUFA's – Ácidos Gordos Polinsaturados

PTH – Paratormona

Rácio UPC – Rácio Proteína/Creatinina Urinárias

SDMA – Dimetilarginina Simétrica

SOD – Superóxido Dismutase

Spozonoterapia – Sociedade Portuguesa de Ozonoterapia

SRAA – Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

µg – Micrograma

TFG – Taxa de Filtração Glomerular

TGF1 – Fator de transformação de crescimento

TNFα – Fator de Necrose Tumoral alfa

I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, a partir do qual foi desenvolvida esta dissertação, foi realizado no Hospital Veterinário da Madeira entre 25 de setembro de 2017 e 30 de abril de 2018, sob a orientação da Dra. Joana Lopes.

Durante o estágio foi possível assistir e participar em variadas atividades realizadas no hospital assim como em domicílios.

Na área de medicina interna, esta pôde ser dividida em consultas e internamento. As consultas, inicialmente, consistiram na assistência das mesmas, com realização de exame físico e contenção de animais. Posteriormente, foi possível participar em consultas de vacinação, efetuar colheitas de sangue, limpeza de feridas, assim como realização de pensos e a remoção de pontos cirúrgicos.

No internamento surgiu a oportunidade de acompanhar animais com diferentes doenças e participar em diversos procedimentos. As atividades abrangeram o cuidado e alimentação dos animais, administração de medicação por diversas vias, medição de glicemia em pacientes diabéticos, contenção de animais domésticos e exóticos, assim como monitorização de pacientes nos cuidados intensivos. Foi ainda possível a colocação de cateteres, recolha de sangue, algaliação de animais e posterior lavagem vesical, limpezas de feridas e realização de pensos variado. Em alguns pacientes, foi, ainda, necessária a medição da pressão arterial, realização de eletrocardiogramas e a sua interpretação. Sendo uma zona endémica, foi possível participar no programa de tratamento de *Dirofilaria immitis*. Os domicílios consistiram no auxílio ao clínico nos procedimentos, como por exemplo, a contenção de animais.

Na presença de urgências foi realizada a preparação do material básico para estabilização do paciente e assistência aos clínicos.

Na área laboratorial foram recolhidas as amostras sanguíneas para a realização de hemograma, análises bioquímicas, e, ainda, o processamento de amostras para envio a laboratório externo. Adicionalmente, foi possível a observação de parasitas ao microscópio e realizados testes rápidos para diagnósticos de *Dirofilaria* e FIV/FeLV. Em todos estes procedimentos, houve o intuito, não só de realizá-los, como também interpretar os resultados obtidos.

Na imagiologia, foi possível assistir a ecografias e realizar radiografias com contenção e posicionamento dos animais e interpretação das imagens. Foi permitida, também, a assistência de endoscopias, além da monitorização do paciente.

Na área cirúrgica, surgiram oportunidades de colaborar não só em cirurgias de esterilização de animais de companhia e exóticos, como em procedimentos mais complexos, como laparotomias exploratórias, cirurgias ortopédicas, entre outras. Neste sentido, foi possível, igualmente, a realização de procedimentos simples, como a castração de gatos. Esta área

permitiu a passagem por diversos papéis, como a preparação da sala cirúrgica e do material necessário, preparação e administração anestésica e restante medicação pré-cirúrgica, colocação de cateter, tricotomia, desinfecção do campo cirúrgico e posicionamento do paciente. Durante as cirurgias foi, também, permitido passar pela função de assistente de cirurgião, circulante e anestesista com a monitorização do paciente, assim como monitorizar o paciente pós-cirurgicamente.

Na área de reabilitação física, houve possibilidade de avaliar os pacientes e identificar a origem das lesões assim como preparar planos de tratamento para alguns pacientes. Nos protocolos de tratamento foram utilizadas várias técnicas de fisioterapia, como exercícios ativos e passivos, e inclusive a utilização de aparelhos de laser e electroestimulação para variados tipos de lesões. Grande parte do tempo despendido nesta área foi nos tratamentos com recurso à hidroterapia, que envolveram assistência do clínico e realização de algumas sessões.

Este estágio permitiu a passagem pela área das medicinas alternativas, com assistência na contenção de animais durante a acupuntura e, posteriormente, a sua realização. Esta área possibilitou, ainda, a aprendizagem de terapias inovadoras como a ozonoterapia para diversas aplicações e a utilização de implantes de ouro para controlo de gengivoestomatites em gatos.

II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Ozono

1.1. História

O ozono é um gás incolor, solúvel em água e com grande capacidade oxidativa, composto por três átomos de oxigénio. Este gás foi descoberto, em 1840, por Christian Friedrich Schönbein, e identificado inicialmente devido ao seu cheiro característico, “elétrico e picante”, enquanto trabalhava com correntes elétricas (Bocci, 2005).

A formação do ozono na natureza acontece na estratosfera, e forma-se da reação de moléculas de oxigénio expostas a radiação ultravioleta, a qual resulta na quebra das ligações duplas de oxigénio e consequente formação de átomos de oxigénio reativos. Estes, posteriormente, reagem com moléculas de oxigénio e dão origem à instável molécula de ozono (Bocci, Borrelli, Travagli, & Zanardi, 2009).

No entanto, só após uma década da sua descoberta, é que começou a ser utilizado para a destruição de microrganismos, mais precisamente como desinfetante de água (Smith, Wilson, Gandhi, Vatsia & Khan, 2017). Durante a 1ª Guerra Mundial, teve início o seu uso na medicina, nomeadamente para o tratamento, de forma empírica, de feridas infetadas e gangrenas pós-traumáticas. Em 1972, foi fundada a Sociedade Médica de Ozono com o objetivo de estudar o ozono e as suas aplicações (Schwartz & Martínez-Sánchez, 2012).

Atualmente, as máquinas para obtenção de ozono médico têm em conta as características do gás, tornando todo o processo mais seguro para os utilizadores e para o ambiente. Deste modo, os materiais em contato com o gás devem ser sempre resistentes à oxidação do mesmo, dos quais são exemplos, o aço inoxidável, o vidro neutro, o teflon, o titânio, a borracha viton ou o poliuretano (Bocci, 2006).

O ozono medicinal forma-se através de uma reação reversível, na qual o oxigénio médico é exposto a uma corrente com voltagens de 5,000 a 13,000 Volts e, à semelhança do que ocorre na natureza, ocorre a quebra do oxigénio molecular e, posteriormente, a ligação do radical livre com uma outra molécula de oxigénio (Cakir, 2014). A concentração final de ozono é inversamente proporcional ao fluxo de oxigénio pelo que, quanto maior o fluxo de oxigénio, menor será a concentração de ozono (Bocci et al., 2009). A mistura gasosa final deve ser sempre composta por pelo menos 95% de oxigénio e no máximo 5% de ozono (Bocci, 2006). Dado que esta mistura advém de uma reação reversível e é, por isso, considerada uma molécula instável, ocorre a degradação de ozono ao mesmo tempo que este se está a formar. Tendo em conta esta particularidade, a mistura oxigénio-ozono deve ser utilizada logo após a sua produção sendo que, a uma temperatura de 20°C possui um tempo de semivida de 40min (Bocci 2005). Todavia, fatores como a presença de temperaturas elevadas, de radiação UV e de agentes catalisadores assim como determinados valores de pH e forças iónicas, vão acelerar o processo de decomposição do ozono (Lapolli, 2003).

1.2. Mecanismo de ação

O ozono é um potente oxidante que, em contato com os fluidos biológicos, (soro fisiológico, sangue, linfa, urina) dissolve-se e dá início a reações de oxidação, reagindo, preferencialmente, com ácidos gordos polinsaturados (PUFA's), seguido de antioxidantes hidro e lipossolúveis, proteínas e eventualmente hidratos de carbono e ácidos nucleicos (Sagai & Bocci, 2011; Burgassi, Zanardi, Travagli, Montomoli & Bocci, 2008).

No organismo, grande parte do ozono é rapidamente neutralizado pelos antioxidantes. Quando administrado em concentrações adequadas, uma pequena porção reage com PUFA's e dá origem a mensageiros que promovem o efeito terapêutico. A interação do ozono no organismo pode ser dividida em duas reações de oxidação (Bocci, Zanardi & Travagli 2011a; Schwartz & Martínez-Sánchez, 2012).

A reação inicial do ozono ocorre com a oxidação dos ácidos ascórbico e úrico, assim como de compostos tiol de proteínas, como a albumina, cisteína e glutathione reduzida livre (GSH) (Bocci, 2006). Desta reação, formam-se radicais livres como o hidroxilo (HO^\cdot), superóxido (O_2^\cdot) e, ainda, compostos oxidantes, como o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) que são denominados de espécies reativas de oxigénio (ERO) (Bocci, 2005).

As ERO são mensageiros iniciais de ação curta, pois persistem no organismo apenas por alguns segundos, sendo o mais importante o H_2O_2 , que é rapidamente reduzido a água por enzimas antioxidantes como glutathione peroxidase, catalase, glutathione redutase e superóxido dismutase (Sagai & Bocci, 2011; Bocci, Zanardi, Borrelli & Travegli, 2011b).

A segunda reação do ozono ocorre com a peroxidação dos lípidos, na qual são também sintetizadas ERO, com o H_2O_2 a ter novamente importância, e uma variedade de aldeídos, também denominados de produtos de oxidação de lípidos (POL) (Bocci, 2005; Borrelli & Bocci, 2010). Estes atuam com mensageiros tardios e duradouros que, através da circulação, distribuem-se por todos os órgãos, nos quais, mesmos em concentrações muito baixas, exercem uma função sinalizadora de stress oxidativo agudo (Bocci et al., 2009). Dos POL mais importantes faz parte o 4-hidroxinonenal (4-HNE) que participa de ações de peroxidação que ocorrem naturalmente nas células e possibilita a homeostase através da indução da síntese de antioxidantes (Bocci et al., 2011a; Sagai & Bocci, 2011). Além do sistema antioxidante, outros processos permitem diminuir as suas concentrações, como a diluição no plasma extracelular, a destoxificação hepática e a excreção através da bília e da urina (Bocci et al., 2009).

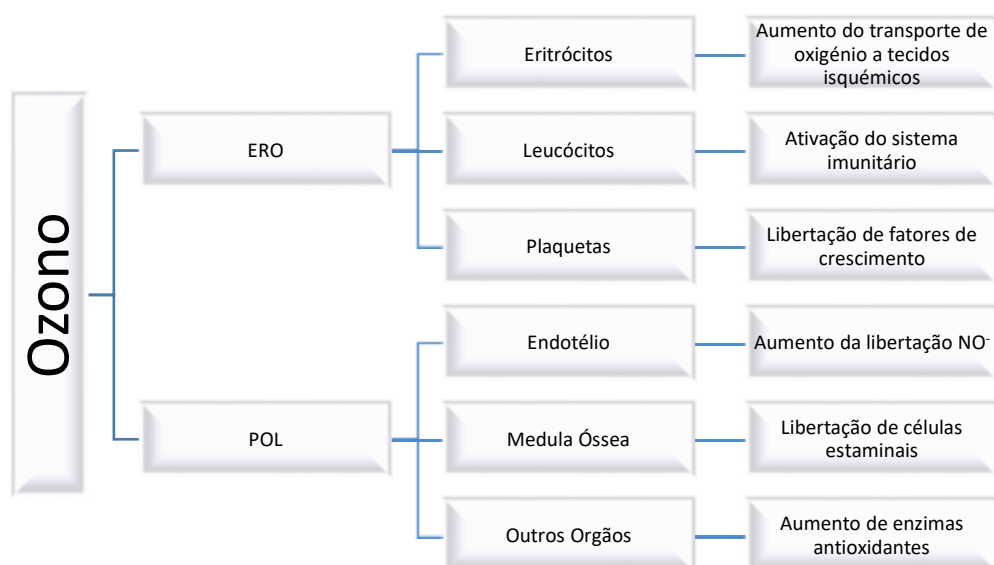
É de salientar que, em condições fisiológicas, tanto os ERO como os POL, são produzidos de forma contínua e exercem um papel fundamental na proteção e sobrevivência das células (Borrelli & Bocci, 2010). A presença destes no organismo tem potencial citotóxico, contudo são neutralizados por um potente sistema antioxidante, pelo que os seus efeitos nefastos ocorrem quando são produzidos excessivamente e/ou a capacidade antioxidante está gravemente comprometida (Bocci, 2006).

Se por um lado a ozonoterapia está dependente da capacidade antioxidante do organismo, por outro a produção de radicais e compostos decorrentes da sua ação vão também estimular este sistema de proteção natural. Para tal é necessário que a concentração utilizada seja adequada ao volume e à capacidade antioxidante do sangue (Bocci, 2005). Ou seja, a concentração administrada deve permitir que haja a reciclagem das enzimas antioxidantes de modo a que capacidade antioxidante total do sangue não nunca seja inferior a 30%, a partir do qual o organismo não consegue responder ao stress oxidativo presente (Bocci et al., 2009). Com a utilização de concentrações adequadas para cada técnica de administração, a ozonoterapia provoca uma pequena e controlada perturbação no equilíbrio oxidante-antioxidante que é reequilibrada em cerca de 20 minutos, através da reposição dos antioxidantes (Borreli & Bocci, 2010). Estes podem ser classificados em enzimáticos e não enzimáticos, sendo que, dos primeiros, têm importância o superóxido dismutase (SOD), a glutathione peroxidase (GSH-Px), a catalase e heme oxigenase (HO-1) (Smith et al., 2017). Relativamente aos não enzimáticos, estes são compostos por vitaminas lipossolúveis, vitaminas hidrossolúveis e oligoelementos (Bocci, 2005).

1.3. Ações biológicas

A ozonoterapia tem por base a indução de um estado de stress oxidativo agudo transitório, controlado (Bocci et al., 2011a), do qual as células reagem rapidamente, de modo a adaptarem-se à alteração e, consequentemente, manter a homeostase (Sagai & Bocci, 2011). De uma forma geral, os produtos de degradação do ozono exercem uma ação ativadora de sistemas biológicos, através da otimização dos níveis de energia e a capacidade de defesa do organismo (Figura 1) (Schwartz & Martínez-Sánchez, 2012; Ekici, Ekici & Luleci, 2015).

Figura 1 - Principais efeitos terapêuticos do ozono (Adaptado de Bocci, 2005).



1.3.1. ERO

Como referido anteriormente, a ERO com maior relevância é o H_2O_2 , em que o seu aumento repentino no sangue é rapidamente controlado pelos antioxidantes plasmáticos, através da sua redução a água. Adicionalmente é capaz de se difundir para células sanguíneas onde desencadeia várias vias bioquímicas. Nestas células a sua concentração é também controlada pelas enzimas antioxidantes intracelulares, evitando que se torne tóxico (Bocci, 2005).

Nos eritrócitos, o H_2O_2 é rapidamente reduzido pela glutathione redutase, com diminuição da disponibilidade de GSH e consequente aumento da glutathione oxidada. As concentrações de GSH voltam aos valores iniciais em 10-15 minutos, quando a sua forma oxidada é reduzida pela glutathione redutase, que utiliza o fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida-adenina (NADPH) como um dador de eletrões (Birben, Sahiner, Sackesen, Erzurum & Kalyci, 2012). Este ciclo de recuperação de GSH é acompanhado por um aumento de glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) que contribui para glicólise mais eficiente na célula. Esta é acompanhada por aumento de adenosina trifosfato (ATP) e de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), sendo este responsável por um desvio transitório na curva de dissociação de oxigénio, que leva a um incremento no fornecimento de oxigénio nos tecidos (Bocci, 2004; Sagai & Bocci, 2011; Madej et al., 2007).

Nos leucócitos ocorre indução da secreção de: interleucina 1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF α), fator de crescimento de colónias granulócito-macrófago (GM-CSF) e interferão beta (IFN β) e ainda, em menores quantidades, de interleucina 2 (IL-2), interleucina 8 (IL-8) e o interferão gama (IFN γ) (Di Maio, Urrichi & Rodríguez, 2009; Smith, Oertle, Warren & Prato, 2015).

A ação dos mensageiros nas plaquetas promove a síntese de fatores de crescimento e fatores de crescimento transformadores de fibroblastos (Sagai & Bocci, 2011; Basile, Rosseto, del Rio, Joaquim & Moraes, 2017).

1.3.2. POL

A mensagem de stress oxidativo agudo é transmitida pelos POL pela via sistémica, a qualquer órgão, nomeadamente a medula óssea, onde estimula a produção de enzimas antioxidantes e a libertação de células-tronco (Schwartz & Martínez-Sánchez, 2017). São estes produtos, que no decurso das sessões, levam a efeitos terapêuticos mais prolongados que as ERO, uma vez que as pequenas concentrações, atóxicas para o organismo, que atingem a medula repetidamente provocam uma adaptação ao stress oxidativo induzido (Bocci, 2005). A ação dos POL pode, deste modo, levar à regulação positiva do sistema antioxidante e à produção de células com características melhoradas, como por exemplo, as mencionadas anteriormente nos efeitos das ERO nos eritrócitos, ou seja, as células recém-formadas vão apresentar, de igual modo, valores aumentados de 2,3-DPG e enzimas antioxidantes (Bocci,

2005). A ativação destas enzimas conduz à eliminação dos peróxidos e radicais livres ainda existentes no organismo e contribuem para a proteção das paredes celulares contra os oxidantes (Elvis & Ekta, 2011).

No endotélio, o 4-HNE interage com o óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) promovendo um aumento do óxido nítrico (NO), importante para a manutenção de níveis ótimos de vasodilatação e oxigenação de tecidos (Borrelli & Bocci, 2010, Bocci, 2004; Schwartz & Martínez-Sánchez, 2012).

1.4. Concentrações

A seleção da concentração a administrar corresponde a uma etapa importante na ozonoterapia, visto que valores muito baixos não são capazes de estimular as reações necessárias e concentrações muito altas estão associadas a efeitos tóxicos no organismo (Bocci, 2005). Por outro lado, a concentração escolhida deve ter também depender das limitações de cada tecido, com especial atenção para mucosas, ansas intestinais e olhos, nos quais devem ser usadas doses mais baixas, por possuírem uma capacidade antioxidante inferior a outros locais (Basile et al., 2017).

Tendo as em conta as particularidades dos tecidos onde vai atuar e a técnica utilizada, as concentrações de ozono consideradas seguras variam entre 5 a 60 µg/ml (Associação Espanhola de Profissionais Médicos de Ozonoterapia [AEPROMO], 2010). Para alguns autores, concentrações inferiores a 10µg/ml, são consideradas biologicamente ineficientes ou placebo, uma vez que a mistura de oxigénio-ozono é rapidamente neutralizada pela potente capacidade antioxidante do organismo, e acaba por não atingir o limiar terapêutico. Se, por outro lado, forem utilizadas concentrações superiores aos 80µg/ml terá um efeito citotóxico, a capacidade antioxidante é ultrapassada, e as células não são capazes de neutralizar todo o ozono (Sagai & Bocci, 2011; Bocci et al., 2011a). Quando as concentrações ultrapassam este valor aumenta o risco de hemólise, diminuição do 2,3 DPG e, consequentemente, o organismo pode ficar incapaz de ativar células imunocompetentes (AEPROMO, 2010).

1.5. Técnicas de administração

A seleção da via mais adequada deve ter em conta a patologia, o seu estágio e, igualmente, a condição do paciente (Borrelli & Bocci, 2010).

O ozono pode ser usado na forma de gás, de modo eficiente, em grande parte das vias, sendo as únicas exceções, o seu uso via intravenosa, por incorrer o risco de embolismo, e na via inalatória por toxicidade do sistema respiratório. Pode, ainda, ser diluído em solução salina a 0,9% ou no sangue do paciente. (Bocci, 2005)

As vias de administração podem-se dividir em técnicas locais e sistémicas, conforme descritas na tabela 1:

Tabela 1 - Técnicas de administração de ozonoterapia (Adaptado de J. Joaquim, 2018)

Local / Tópica	Sistémica
Injeção Intramuscular	Auto-hemoterapia Maior
Injeção Subcutânea	Auto-hemoterapia Intermédia
Injeção Para-vertebral	Auto-hemoterapia Menor
Injeção Intra/Peri-articular	Fluidoterapia Ozonizada
Injeção Intradiscal	Insuflação Retal
Insuflação Intra-peritoneal	Insuflação Vaginal
Óleo, Água Bidestilada e Soro Ozonizado	Insuflação Vesical
<i>Bagging</i>	

1.5.1. Técnicas Sistémicas

A auto-hemoterapia maior é considerada uma técnica segura, uma vez que tem em conta o peso do paciente, um determinado volume de sangue, que é exposto ao mesmo volume de gás, e com uma concentração precisa de ozono. Para tal, é recolhido sangue, misturado com a mesma quantidade de ozono, durante 5 minutos, com posterior reintrodução do mesmo pela via intravenosa lenta (Bocci, 2005; Di Maio et al., 2009). De salientar que, ao sangue recolhido deve ser adicionado um volume adequado de anticoagulante para evitar a sua coagulação, sendo o citrato de sódio (3,8%) o mais indicado (Bocci, 2005). De Em veterinária, são colhidos 2-4 ml/Kg de sangue, uma concentração de 40-60 µg/ml de ozono e com uma frequência de 1 a 2 vezes/semana (Joaquim, 2018).

Relativamente à auto-hemoterapia intermédia, apenas difere da anterior nas quantidades e concentrações utilizadas. Neste caso, são colhidos 10 ml sangue e as concentrações de ozono variam entre 30 e 40 µg/ml (J. Joaquim, comunicação pessoal, Outubro 2017).

Na auto-hemoterapia menor, o sangue é recolhido para uma seringa e são utilizadas concentrações de 15, 25 e 30 mg/l com um volume proporcional de sangue (1,5; 2,5 e 3ml). Após um minuto de mistura, pode ser administrada por via intramuscular, subcutânea, peritendínea, ou peri-articular (Di Maio et al., 2009).

Insuflação retal consiste na aplicação da mistura gasosa no reto. Desta forma, o ozono dissolve-se na água presente no epitélio e reage com mucoproteínas, fezes e outras moléculas presentes. Os POL e ERO são depois absorvidos pela via linfática e capilar, através das quais, atingem primeiro o fígado e de seguida toda a circulação. Esta é uma técnica de grande utilidade, considerada simples, não dolorosa, de baixo custo e praticamente livre de efeitos secundários, sendo particularmente útil em pacientes debilitados, ou nos quais a via intravenosa não é possível (Guanche et al., 2010). Porém, uma porção significativa da concentração administrada é neutralizada pelas fezes. O ozono residual dissolve-se e é neutralizado na mucosa, onde, os seus subprodutos reagem com as células, sendo que, apenas uma fração dos POLs será absorvido pela mucosa e o H₂O₂ será totalmente reduzido

a água (Borreli & Bocci, 2010; Bocci et al., 2011a). As concentrações variam consoante a espécie e o peso do paciente. Deste modo, para cães com mais de 30Kg são utilizados volumes de 3ml/Kg e para aqueles com menos de 30Kg, volumes de 5ml/Kg. As concentrações iniciais são 10µg/ml, podendo chegar aos 15µg/ml quando usado em processos infecciosos crónicos ou tecidos desvitalizados. Em gatos são utilizados volumes de 2ml/Kg e concentrações de 10 a 12 µg/ml (J. Joaquim, comunicação pessoal, Outubro 2017). A ozonização de fluidos é uma técnica simples e eficaz, em que os fluidos são ozonizados e administrados volumes de 30-60ml/Kg/dia em cães e 30ml/kg/dia em gatos, com concentrações de 40-60ug/ml de ozono em lactato de ringer. Após a ozonização da solução, que demora 7 minutos, a administração é pela via subcutânea e/ou endovenosa (Joaquim, 2018).

1.5.2. Técnicas Tópicas

O Bagging consiste na aplicação tópica com recurso a uma bolsa ou câmara de plástico hermeticamente fechada pela qual flui o ozono numa concentração hiperbárica (Bocci, 2005). O tempo de aplicação é de 20 a 30 minutos, sendo que os primeiros 10 minutos de fluxo são com a entrada de ozono e os restantes para a atuação do mesmo. As concentrações variam de 40 a 70µg/ml consoante a afeção a tratar (J. Joaquim, comunicação pessoal, Outubro 2017). Este método é útil em lesões de membros, sendo que a lesão deve ser sempre humedecida com água para facilitar a ação do ozono (Basile et al., 2017).

Outras aplicações tópicas consistem no uso óleos e cremes ozonizados que permitem a estabilização do ozono e consequentemente aumentam o tempo de armazenamento do mesmo (Rodrigues, Cardoso, Caputo, Carvalho, Fiorini & Schneedorf, 2004). As concentrações de ozono no óleo vão depender da doença a tratar e da natureza do óleo em si (Guerra- Branco, Poznyak, Pérez, Gómez & Gómez, Bautista-Ramirez & Chairez, 2017).

A ozonização intra-peritoneal e intrafistular têm por base a lavagem local destas cavidades com um fluido ozonizado que pode ser lactato de Ringer, soro fisiológico ou água bidestilada (Sociedade Portuguesa de Ozonoterapia, 2015). Para esta técnica são utilizados 250ml de fluido, que é ozonizado durante 5 minutos a concentrações de 40-50ug/ml (J. Joaquim, comunicação pessoal, Outubro 2017).

Podem ser ainda feitas aplicações peri-lesionais pelas vias subcutânea, intra-articular, peri-articular, intra-discal, intra-foraminal, para-vertebral entre outras (Basile et al., 2017). Estas infiltrações não devem atingirem concentrações superiores a 20µg/ml, nem ultrapassar os 20ml por ponto de aplicação pois acima destes valores vão atuar mecanismos da dor (Bocci et al., 2011a).

1.6. Aplicações terapêuticas

A aplicação da ozonoterapia em medicina humana mostrou ter efeitos benéficos em doenças de diversas etiologias como neurológicas, oftálmicas, endócrino-metabólicas, ortopédicas e imunológicas (Di Maio et al., 2009) porém, em medicina veterinária, ainda não existem muitos estudos sobre a sua utilidade.

A aplicação tópica mostrou ser eficaz em veterinária, como no tratamento de lesões fúngicas em tartarugas com recurso a óleo e água ozonizados (Morette, 2011) e de dermatófitos em coelhos (Rodriguez, Legrá, Mirabal & González 2007). Num estudo em carraças *Rhipicephalus sanguineus*, foram observadas lesões na cutícula e oxidação dos poros do espiráculo respiratório e que resultou em 100% de mortalidade das carraças (Moreira et al., 2018);

A utilização do ozono tem também demonstrado resultados promissores nas doenças ortopédicas (Di Maio et al., 2009). A sua ação, por exemplo, nas hérnias promove vários efeitos benéficos, uma vez que exerce efeitos anti-inflamatórios e analgésicos através do aumento da oxigenação, redução da inflamação local e da oxidação dos mediadores de indução da dor (Andreula, Simonetti, de Santis, Agati, Ricci & Leonardi, 2003). A ozonoterapia tem, também, um efeito direto no núcleo polposo do disco intervertebral, promovendo descompressão de raízes nervosas, por dissolução de proteoglicanos e colagénio tipo I e II (Borrelli & Bocci, 2018). Adicionalmente a reabsorção de produtos hidrofílicos e de água leva a atrofia progressiva e desaparecimento do material herniado. Esta descompressão, por sua vez, leva ainda a resolução de estase venosa que pode estar presente (Muto, Andreula & Leonardi, 2004).

Avilés (2013) estudou os efeitos do ozono em cães com doenças musco-esqueléticas, no qual em apenas 24h, mais de metade dos animais do estudo (total de 15 animais estudados), deixou de manifestar dor e aumento da atividade locomotora. Em equinos foi também aplicado em afeções locomotoras, com resultados nos processos isquémicos e na diminuição dos efeitos negativos do metabolismo aeróbico/anaeróbico, em condições de máximo esforço (animais de corrida) (Haddad, Sousa, Hincapie, Ribeiro Filho, Ribeiro Filho & Benjamin, 2009). A ozonoterapia pode, ainda, através dos mecanismos de ação referidos anteriormente, ter efeitos de proteção de órgãos, a indução de enzimas ou ao ativar vias metabólicas que mantêm o equilíbrio redox (Léon et al., 1998), atenuar lesões provocadas por isquemia, na reperfusão de tecidos (Alves et al., 2004) ou pela ação de fármacos como por exemplo, a cisplatina (Gonzalez et al., 2004). Num estudo com incidência em canídeos com leishmaniose visceral, foram estudados os efeitos da insuflação retal de ozono, onde os valores séricos de creatinina e ureia diminuíram após a 1 e 2 semanas de tratamento, respetivamente, para os intervalos de referência (Moda, Lima, Fernandes, Zângaro & Moreira, 2014). O uso da ozonoterapia foi estendida ao tratamento de mastites por Ogata & Nagahata (2000) e Pereira

& Garcia (2006), onde ambos estudos apresentaram resultados positivos, com resolução dos sinais clínicos e melhoria dos valores de contagem de células somáticas.

O ozono pode ter outras aplicações, não clínicas, como no tratamento de água e na esterilização de material cirúrgico, dado o seu efeito oxidante nos fosfolípidos e lipoproteínas das bactérias, fungos, vírus e protozoários. Contudo, o seu efeito não deve ser considerado quando os microrganismos se encontram na corrente sanguínea, já que estes agentes patogénicos estão protegidos pela potente capacidade antioxidante do sangue e o ozono terá a tendência a reagir primeiramente com os antioxidantes (Sagai & Bocci, 2011). Para que o ozono conseguisse atuar nestes agentes, seriam necessárias concentrações elevadas, superiores àquelas consideradas seguras para o organismo (Burgassi et al., 2008). Todavia, pode ter efeito benéfico, em concentrações seguras, em algumas doenças infecciosas, ao estimular o sistema imunitário, nomeadamente ao ativar neutrófilos e ao estimular a síntese de algumas citocinas (Bocci et al., 2009).

A ozonoterapia funciona, não só como uma terapêutica complementar aos tratamentos preconizados, mas, também, em algumas situações consegue ser uma alternativa quando o tratamento inicial falhou (Di Maio et al., 2009).

1.7. Toxicidade

Como referido anteriormente, para a formação de ozono medicinal é utilizado oxigénio médico, constituindo uma importante etapa por forma a evitar que o tratamento com esta molécula seja nefasto. O uso de ar atmosférico, está assim contraindicado, uma vez que além da formação de ozono, vai levar à formação de dióxido nítrico, que é uma molécula tóxica para o organismo (Bocci et al., 2009; Bocci, Zanardi & Travagli, 2011).

Atualmente, ainda existem algumas reticências na utilização do ozono uma vez que, é um conhecido poluente da atmosfera, quando associado a outras moléculas, e por ter um grande poder oxidante (Borrelli & Bocci, 2010). De modo a evitar que se torne tóxico, é importante seguir as recomendações de uso, com os materiais e pelas vias adequadas, e, igualmente, com as concentrações adequadas (Bocci et al., 2011).

A inalação direta do gás deve ser evitada devido à ação nociva que exerce nos pulmões. Qualquer gás inalado, antes de entrar na microcirculação alveolar, tem de ser dissolvido na camada aquosa. Porém, o ozono, apesar de ser 10x mais hidrossolúvel que o oxigénio ao atingir o pulmão, reage de imediato localmente com as substâncias do surfactante com produção de ERO e POL (Sagai & Bocci, 2011). No sangue, estes produtos são prontamente neutralizados pelos antioxidantes. Contudo, a capacidade antioxidante do pulmão é considerada irrelevante quando comparada com a do sangue, pelo que os compostos citotóxicos não são eliminados (Borrelli & Bocci, 2010). Os danos daqui decorrentes levam à secreção de lactato hidrogenase e a uma acumulação de proteínas e células inflamatórias,

considerados biomarcadores de lesão pulmonar, que são dificilmente eliminados deste órgão (Van Hoof et al., 1997).

Por ser uma terapêutica que está dependente de uma ação-reação por parte do organismo, devem ser utilizados protocolos com concentrações e intervalos de administração adequados, que não só permitam o organismo responder ao aumento de oxidantes que é provocado, como tenham em consideração a necessidade de recuperação dos mecanismos de defesa (Bocci, 2005). Um exemplo da importância do cumprimento destes requisitos foi observada num estudo de Volkhovskaya, Kolesova & Tkachenko (2008), no qual a injeção de soro fisiológico ozonizado durante 10 dias seguidos, conduziu a uma falha na capacidade de compensação e de adaptação dos ratinhos ao stress oxidativo causado, piorando a condição geral destes. Este resultado é explicado pelo facto de o intervalo entre as administração ser muito pequeno, o que provocou a exaustão do sistema antioxidante e consequente aumento descontrolado de oxidantes (Joaquim, 2018).

1.8. Contraindicações

A utilização da ozonoterapia está contraindicada, em pacientes gestantes, em particular em fases iniciais, de modo a evitar qualquer risco mutagénico, embora a sua ocorrência seja improvável (Bocci, 2005).

Devido aos efeitos que o ozono pode exercer por todo o corpo, esta técnica não deve ser utilizada em casos de hipertiroidismo, trombocitopenia, doenças cardíacas, condições hemorrágicas, anemia hemolítica e estados convulsivos.

É, ainda, importante, salientar que os felinos possuem hemoglobina mais suscetível de oxidação, pelo que pode ocorrer formação de meta-hemoglobina com maior facilidade. Tendo em conta esta particularidade, nesta espécie, por norma são utilizadas as concentrações mais baixas para a técnica, de forma a manter a segurança, não devendo ser considerada na presença de anemia (J. Joaquim, Comunicação oral, Outubro 2017).

2. Rim

2.1. Anatomia renal

Os rins estão situados no espaço retroperitoneal, junto aos músculos lombares, com o rim esquerdo numa posição ligeiramente caudal em relação ao direito, devido ao posicionamento do estômago. No cão, os rins encontram-se, aproximadamente, na direção das vertebrae T13 a L2, enquanto nos gatos, o rim direito localiza-se ao nível das vertebrae L1 a L4 e o rim esquerdo, L2 a L5 (Clarkson & Fletcher, 2011). O comprimento do rim é tipicamente avaliado, ao raio x, como o rácio do comprimento da segunda vertebra lombar numa incidência ventrodorsal. As referências são 2,5-3,5 vertebrae para cão e 2,4-3,0 vertebrae para gato (Syme & Jepson, 2017).

Cada rim é composto por quatro zonas distintas: a cápsula, de função protetora; o córtex; a medula, onde se encontram os nefrónios; e o bacinete, por onde sai a urina em direção aos ureteres (Aspinall & Cappello, 2015). Os nefrónios, também denominados como a unidade funcional do rim, possuem uma grande variedade de células que vão possibilitar que este órgão exerça as suas funções (Verlander, 2013). Em cada rim, existem cerca de 400.000 a 600.000 nefrónios no cão e 200.000 no gato (Chew, DiBartolla & Schenck 2011; Clarkson & Fletcher, 2011). Na região cortical do rim, o nefrónio é composto pelo corpúsculo renal, do qual fazem parte a cápsula de Bowman e o glomérulo, estrutura na qual o sangue é filtrado de forma seletiva. No córtex encontram-se, ainda, os túbulos contornados proximais e distais que controlam a absorção ou eliminação de substâncias, assim como as estruturas presentes na medula renal, as ansas de Henle e os tubos coletores (Collins, 2018).

2.2. Função Renal

Os rins têm um papel importante no organismo, uma vez que, em cada batimento cardíaco, passa por estes cerca de 25% do débito cardíaco, o que favorece a filtração do sangue e consequente eliminação de resíduos metabólicos e outras substâncias tóxicas (Junqueira & Carneiro, 2008). A função renal, passa também pela manutenção da homeostase, ao responder a desequilíbrios hídricos, de eletrólitos, e ácido-base, através da alteração das taxas de reabsorção ou secreção de moléculas (Collins, 2018). Além destas, os rins, estão também encarregues da produção de hormonas como a renina, com influência na pressão sanguínea, a eritropoietina, que estimula a produção de eritrócitos, e o calcitriol que tem importância na promoção do crescimento e remodelação óssea e na absorção intestinal de cálcio, fósforo e magnésio (Verlander, 2013).

2.2.1. Filtração glomerular

A filtração glomerular é a função mais importante do rim e que, de certo modo, permite que ocorram outras funções, como a manutenção da homeostasia. O sangue transportado pela

arteríola aferente entra no glomérulo (figura 2), onde passa pelo processo de filtração e dá origem ao ultrafiltrado. Este fluido sofre alterações na sua composição, ao longo do seu percurso pelas restantes estruturas do nefrónio, e que correspondem a respostas de alterações fisiológicas do organismo (Aspinall & Cappello, 2015).

O ultrafiltrado resultante do processo inicial de filtração no glomérulo tem concentrações de ureia, glicose, cloreto e fosfato, semelhantes às do plasma sanguíneo. Tanto os solutos como a água são livremente filtrados, enquanto moléculas de maiores dimensões, como algumas proteínas e os eritrócitos, ficam retidos devido à barreira seletiva de filtração, característica desta estrutura (Verlander, 2013).

A filtração glomerular é influenciada pela presença de pressões e cargas elétricas que vão favorecer ou se opor à passagem de moléculas pela parede capilar do glomérulo (Finch, 2014). Por um lado, a filtração glomerular é favorecida tanto pela pressão hidrostática capilar, como pela a presença de substâncias na forma de catião, que apresentam maior facilidade em passar pela barreira de filtração. Por outro lado, a pressão oncótica do plasma e a pressão hidrostática da cápsula de Bowman vão opor-se à passagem de substâncias e os aniões vão ter a tendência a serem repelidos devido à presença de células tipicamente de carga negativa que formam esta barreira (Brown, 2011).

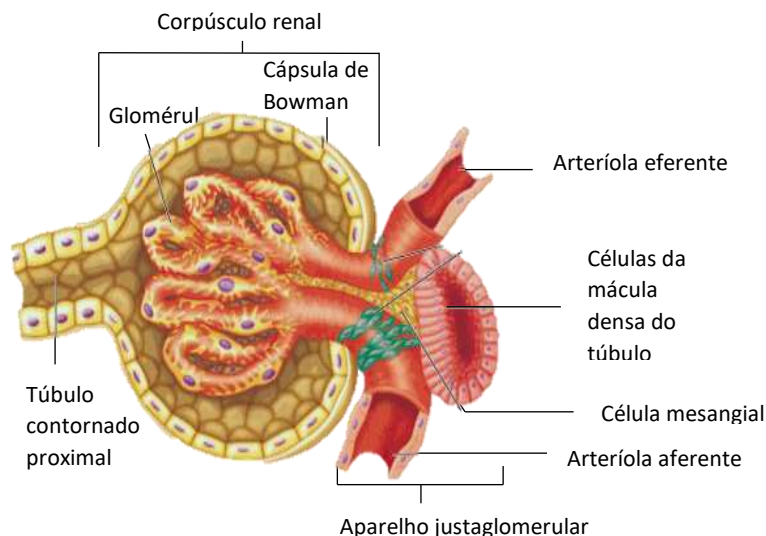


Figura 2 - Anatomia da cápsula de Bowman (Adaptado de <https://ocw.unican.es>)

Em condições normais, a filtração glomerular é mantida relativamente constante, apesar das alterações na pressão sistémica e do fluxo renal (Verlander, 2013). A perfusão capilar pode ser controlada diretamente no rim por contração e dilatação das arteríolas aferente e eferente. A constrição da arteríola aferente tende a diminuir a pressão capilar no glomérulo e taxa de filtração, enquanto a constrição da arteríola eferente tende a aumentá-las (Aspinall & Cappello, 2015). Adicionalmente, as células mesangiais do glomérulo participam no controlo da filtração através da redução da superfície capilar glomerular e/ou da permeabilidade da parede glomerular à passagem de água, que vai reduzir a taxa de filtração. A contração destas células está a cargo de algumas hormonas e substâncias vasoativas, como a angiotensina II (Brown, 2011). O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) apresenta um papel importante na manutenção da taxa de filtração glomerular (TFG), assim como no fluxo sanguíneo renal. A diminuição da pressão de perfusão renal, que muitas vezes surge por hipotensão sistémica,

promove a síntese de renina pelas células da parede da arteríola aferente. Por sua vez, a renina estimula a transformação de angiotensinogénio em angiotensina I que é posteriormente convertida na angiotensina II. Esta tem uma ação vasoconstritora que aumenta a pressão sanguínea sistémica e a pressão de perfusão renal. A angiotensina II também influencia a libertação de aldosterona que leva ao aumento da reabsorção de sódio e água nos túbulos renais, com aumento do volume intravascular e resistência vascular (Verlander, 2013).

2.2.1.1. Avaliação da filtração glomerular

A filtração do sangue, supracitado, é a principal função renal, sendo que a funcionalidade do parênquima renal está diretamente relacionada com esta, através da TFG (Chew et al., 2011). A medição desta taxa é considerada o *gold standard* para a avaliação da função renal e deteção da progressão doença renal, uma vez que permite uma avaliação quantitativa e precisa da filtração restante e da capacidade de excreção dos rins (Pressler, 2013). A TFG global é a soma total de TFG de cada nefrónio de ambos os rins, e o seu valor é expresso em mililitro de filtrado formado por minuto por quilograma de peso corporal (ml/min/Kg), de forma a ter em consideração a variação de tamanhos entre indivíduos (Verlander, 2013). A medição deste parâmetro tem utilidade em situações de raças predispostas a doenças renais ou em pacientes que estejam a tomar medicação com potencial nefrotóxico, onde a deteção de diminuição da função renal pode levar a mudança de tratamento. (Syme & Jepson, 2017). Todavia, a TFG não é medida por rotina na avaliação da função renal pois é necessária a administração de um marcador adequado e a obtenção de várias medições sanguíneas e/ou urinárias, o que, além de aumentar os custos financeiros implica uma manipulação mais frequente do paciente, e consequente desconforto (Relford, Robertson & Clements, 2016).

2.2.2. Marcadores de TFG

Idealmente, um marcador adequado à avaliação da função renal é produzido a um ritmo constante, possui uma concentração plasmática igualmente contante, é pouco variável entre indivíduos, não está ligado a proteínas plasmáticas, nem exerce ações tóxicas nos rins. Adicionalmente, deve ser livremente filtrado pelo glomérulo sem ser eliminado a nível tubular ou sofrer reabsorção tubular e, não deve apresentar outra via de eliminação além da renal (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

É de ter em conta que os marcadores séricos podem ser menos sensíveis e ter pior correlação com a presença ou com a gravidade da doença renal que os marcadores urinários (Pressler, 2013). Mesmo assim, na clínica, é mais frequentemente a medição da creatinina sérica em conjunto com a ureia, por serem métodos considerados mais práticos (Chew et al., 2011).

2.2.2.1. Ureia

Ureia é um produto azotado derivado da metabolização da amónia no fígado, sendo eliminado na urina. A medição da sua concentração plasmática é comumente utilizada em conjunto com a da creatinina. Porém, este composto não é produzido nem excretado de forma constante, uma vez que sofre reabsorção passiva nos túbulos renais. Adicionalmente, podem ser observados aumentos da concentração da ureia sem que haja envolvimento do rim. Esta elevação pode estar associada a uma ingestão aumentada de proteína na dieta e/ou a um aumento do catabolismo proteico, devido a situações febris, queimaduras ou infeções. Por outro lado, dietas pobres em proteína, alterações na função hepática ou aumento da reabsorção tubular da ureia, típica de pacientes desidratados ou hipovolémicos, leva a uma diminuição dos valores de ureia (Syme & Jepson, 2017).

2.2.2.2. Creatinina

Creatinina é sintetizada no músculo, pelo que reflete não só a função renal como a massa muscular (Grauer, 2016). Se a massa muscular se mantiver constante, a creatinina é produzida a uma taxa diária constante, porém, pode aumentar ou diminuir consoante haja um aumento ou diminuição da massa muscular, respetivamente (Syme & Jepson, 2017). Os valores de creatinina sérica são, igualmente, influenciados pela idade, pela dieta e pelo estado de hidratação (Grauer, 2016; Quimby, 2015).

Uma vez que a creatinina não é reabsorvida e é pouco excretada nos túbulos renais, depende, essencialmente, da filtração glomerular para ser eliminada (Calunga et al., 2009). Ainda assim, existe uma relação exponencial entre a creatinina e a TFG, na qual declínios acentuados na TFG em estádios iniciais podem ser acompanhados de pequenos aumentos nos valores de creatinina sérica. Por outro lado, numa fase mais avançada, uma pequena alteração na TFG provoca um grande aumento nas concentrações da creatinina (Sparkes et al., 2016).

É considerado um marcador impreciso da função renal, uma vez que não consegue detetar os estádios iniciais da doença, com os valores a aumentarem, geralmente quando a perda da função ultrapassa os 75% (Sparkes et al., 2016; Polzin, 2017a).

Apesar das limitações que apresenta, a medição da creatinina sérica é económica e disponível em todos os laboratórios, fatores que incentivam o seu uso recorrente (Redford et al., 2016).

2.2.2.3. SDMA

A dimetilarginina simétrica (SDMA) é uma molécula derivada de proteínas intracelulares com eliminação, principalmente renal e, nos últimos anos, tem sido estudada como marcador da função renal com resultados promissores quanto à avaliação da TFG (Relford et al., 2016). Estudos indicam que é sensível à deteção da diminuição da TFG quando esta diminui cerca

40% nos gatos (Polzin, 2017a). Quando comparada com a creatinina, parece ser constatado aumento de valores, em média, 17 meses antes do aumento da creatinina no gatos e 9 meses nos cães (Hall, Yerramilli, Obare, Yerramilli & Jewell, 2014; Hall et al., 2016;). Ao contrário do que é observado para a creatinina sérica, o teste para medição de SDMA não é influenciado pela massa muscular, nem a sua medição é afetada por amostras com hemólise ligeira a moderada, nem qualquer grau de lipemia ou icterícia (Relford et al., 2016). Deste modo, é um marcador mais sensível na deteção antecipada da diminuição da função renal e como tal pode ser útil no diagnóstico precoce de doença renal crónica no cão e no gato, assim como servir de guia na monitorização da doença renal avançada (Sparkes et al., 2016; Syme & Jepson, 2017). Contudo, é recomendado que os valores de SDMA sejam analisados em conjunto com as medições de creatinina (Relford et al., 2016).

2.2.2.4. FGF-23

O FGF-23 é uma proteína sintetizada e segregada pelos osteoblastos e osteócitos em resposta do aumento sérico do fósforo e calcitriol. A sua ação passa pelo aumento da excreção renal do fósforo e pela diminuição da absorção deste no intestino, ao diminuir os valores de calcitriol (Hokamp, 2016). Por ser uma proteína de baixo peso molecular é excretada do plasma pela filtração glomerular, pelo que pode ser utilizado como um marcador da TFG. O seu aumento plasmático é proporcional com a redução da TFG no gato. Todavia, a sua concentração é influenciada pelo fósforo plasmático, já que, para o mesmo estágio de DRC proposto pela IRIS (International Renal Interest Society), os gatos com hiperfosfatemia apresentam valores superiores deste marcador, que os com concentrações normais de fósforo. Adicionalmente as restrições de fósforo na dieta conduzem a uma redução da concentração plasmática do FGF-23 (Elliott, 2015).

2.2.2.5. Cistatina C

Cistatina C é uma proteína glomerular produzida por todas as células nucleadas, a ritmo constante, que sofre filtração glomerular sem secreção tubular. A sua medição não é influenciada pela idade, sexo ou raça do paciente, nem precisa de ser colhida amostra em jejum (Ghys et al., 2016). Contudo, os testes comerciais são limitados e em cães foi sugerido ter especificidades mais baixas que a creatinina (Pressler, 2013). Adicionalmente, um estudo com o intuito de avaliar a capacidade de identificação da DRC em gatos mostrou não ser um marcador consistente da perda da função glomerular, pois os seus valores não aumentaram em todos os animais com DRC. Ou seja, não foi capaz de diferenciar gatos saudáveis daqueles com doença renal (Ghys et al, 2016).

2.3. Doença renal crónica

A doença renal crónica (DRC) é a perda da função renal de forma progressiva e irreversível na qual os nefrónios são substituídos por tecido fibroso e estando presente, pelo menos, há 3 meses (Collins, 2018; Bartges, 2012). Ou seja, os mecanismos de compensação dos rins deixam de conseguir manter as funções de excreção de resíduos, de manter a homeostase hidroeletrolítica e ácido-base e, ainda, da síntese e degradação de hormonas (Chew et al., 2011). A perda de função é, na maioria dos pacientes, acompanhada de alteração estrutural todavia, o grau de lesão funcional nem sempre corresponde à perda estrutural observada (Bartges, 2012). A diminuição do número de nefrónios funcionais provoca a redução da taxa de filtração glomerular, com consequente diminuição da excreção de toxinas, que se acumulam no organismo (Collins, 2018).

A prevalência desta doença em gatos é superior à observada em cães, sendo considerada a doença metabólica mais comum nos felinos domésticos, e maioritariamente observada em animais geriátricos (Brown, Elliott, Schmiedt & Brown, 2016). A DRC é uma doença complexa, que é, provavelmente, influenciada por fatores genéticos, individuais e ambientais (Jepson, 2016). A nefrite túbulo-intersticial crónica de origem desconhecida constitui a causa mais comum tanto em cães como em gatos. Nesta espécie, a dificuldade em determinar a causa surge devido à interdependência dos componentes vasculares e tubular, que resulta em danos glomerulares e/ou tubulares irreversíveis (Grauer, 2015).

A DRC pode, ainda assim, estar associada a doenças renais primárias como amiloidose, glomerulonefrite, pielonefrite, rins poliquísticos, doença tubulointersticial, displasia renal e neoplasia. Adicionalmente pode resultar de outros fatores, tais como progressão de insuficiência renal aguda, toxicidade crónica, isquemia renal, infeções do trato urinário, hipertensão sistémica primária ou doenças infecciosas (peritonite infecciosa felina, vírus da imunodeficiência felina e vírus da leucemia felina (Grauer, 2015, Roura, 2016).

2.3.1. Patofisiologia

Os rins são órgãos com uma grande predisposição para lesões isquémicas e tóxicas, uma vez que por estes passa uma grande proporção de débito cardíaco, em comparação ao peso corporal total, apresentam uma alta taxa metabólica e existe grande possibilidade de nefrotoxinas afetarem as células epiteliais dos túbulos renais (Langston, 2017). Na presença de lesões no rim, os mecanismos compensatórios atuam de modo a tentar compensar o número de nefrónios que se vai perdendo com a instalação e progressão dessas mesmas lesões. É de interesse salientar que muita da informação existente sobre a patofisiologia renal nos animais é extrapolada da medicina humana e de estudos experimentais (Reynolds & Lefebvre, 2013).

As lesões crónicas levam à infiltração de células pró-inflamatórias que produzem citocinas, entre as quais a TGF- β 1, associado à deposição de fibrose por ativação de células produtoras

de matriz. Assim, os miofibroblastos produzem grandes quantidades de componentes da matriz extracelular como o colagénio e a fibronectina (Reynolds & Lefebvre, 2013).

Quando os mecanismos de compensação deixam de funcionar surgem complicações secundárias. Os sinais clínicos e complicações da DRC progridem com diminuição da TFG, uma vez que se acumulam substâncias endógenas que, normalmente, seriam eliminadas via excreção renal (Grauer, 2015). A isquemia de nefrónios, consequência de glomérulos danificados, mineralização no rim e acumulação local de amoníaco são fatores adicionais, que contribuem para as lesões túbulo-intersticiais (Jepsen, 2016). Estas lesões são independentes da causa inicial que despoletou a alteração na função e/ou morfologia renal, mas perpetuam e promovem a progressão da DRC (DiBartola & Westropp, 2014). Os mecanismos envolvidos no avanço da DRC são a ativação do SRAA, adaptações hemodinâmicas (hipertrofia glomerular, hiperfiltração, hipertensão), proteinúria, hipertensão sistémica, retenção de fósforo, hipoxia e stress oxidativo (Polzin, 2017b).

2.3.1.1. Hiperfiltração

A hiperfiltração ocorre como resultado do aumento da TFG de cada nefrónio, ainda funcional, acima da capacidade normal (Chew et al., 2011). Deste modo, há uma tentativa de manter a função renal adequada ao aumentar a taxa de filtração de cada nefrónio, denominada de hiperfiltração (DiBartola & Westropp, 2014). Conquanto, este mecanismo tem efeitos secundários na longevidade dos nefrónios, como a proteinúria e glomerulonefrite. Tal acontece devido ao aumento da pressão glomerular que danifica as paredes capilares glomerulares e aumenta filtração proteica plasmática (Grauer, 2015; Collins, 2018). A passagem de proteína, através do glomérulo e o processamento da mesma pelos túbulos renais, pode causar reações adversas no mesângio, túbulos e interstício renal, contribuindo para a nefrite túbulo-intersticial e esclerose glomerular. As células tubulares possuem recetores para hormonas e fatores de crescimento, algumas das quais proteínas de baixo peso molecular, que são filtradas excessivamente, e acabam por interagir com as células do túbulo proximal, onde contribuem para a proliferação celular e deposição de matriz extracelular, com lesão celular. A saturação que ocorre nos recetores dos túbulos, provocada pelo aumento da reabsorção das proteínas filtradas, também estimula genes inflamatórios e vasoativos que contribuem para a propagação de danos (Chew et al., 2011; DiBartola & Westropp, 2014).

2.3.1.2. Complicações secundárias

2.3.1.2.1. Proteinúria

A proteinúria surge como consequência de dano renal, e pode ser um forte indicador da progressão da DRC, contudo para que o seu valor tenha significado esta deve ser apenas de origem renal, pelo que devem ser excluídas possíveis causas pré-renais e pós-renais para a

sua presença. A proteinúria pode ocorrer tanto por alterações na estrutura ou na função da barreira de filtração glomerular, como pode ser devida a redução da capacidade das células do túbulo proximal em reabsorver proteínas (Syme & Jepson, 2017). Uma proteinúria crônica está associada a fibrose intersticial, degeneração tubular e atrofia. A lesão glomerular leva a uma diminuição da perfusão que resulta em hipoxia celular, e, adicionalmente, o aumento da permeabilidade da barreira glomerular permite a filtração de substâncias que vão contribuir para lesão celular. A reabsorção de proteínas e lípidos parece exercer uma ação tóxica diretamente nas células do epitélio tubular, contribuindo para o desenvolvimento de inflamação e apoptose. A gravidade de proteinúria tem significado no prognóstico e no tempo de sobrevivência dos gatos (Reynolds & Lefebvre, 2013; Vaden & Elliott, 2016; Polzin, 2017a). O rácio proteína/creatinina (rácio UPC) é o método mais comumente utilizado para quantificar proteinúria, em que um rácio UPC superior 2,0 é altamente sugestivo de doença glomerular, apesar de outras etiologias não poderem ser excluídas sem biópsia renal (Syme & Jepson, 2017). A proteinúria pode ser considerada persistente quando surgem dois resultados superiores 2,0, separados 10 a 14 dias (Grauer, 2015).

2.3.1.2.2. Hipertensão glomerular

A hipertensão glomerular é um termo usado para descrever pressão hidrostática aumentada nos capilares glomerulares dos nefrônios funcionais, consequência da dilatação da artéria glomerular aferente favorecida pela hiperfiltração. Por outro lado, a angiotensina II provoca hipertensão glomerular, devido à vasoconstrição da arteríola eferente, e acumulação de matriz extracelular mediada pelo fator de transformação do crescimento Beta 1 (TGF- β 1) (Chew et al., 2011).

A hipertensão glomerular pode provocar e, de igual modo, ser provocada pela hipertensão sistêmica, que não só afeta a filtração glomerular como pode ter efeitos em outros órgãos como o olho, coração e cérebro (Reynolds & Lefebvre, 2013). A hipertensão sistêmica pode ser devida a excreção inadequada de sódio por perda avançada de nefrônios ou por TFG muito baixa, nas quais os mecanismos compensatórios já não conseguem contrariar a hipernatremia (Collins, 2018).

2.3.1.2.3. Potássio

A manutenção de concentrações normais de potássio no organismo é controlada pela função renal, através do aumento ou diminuição da sua excreção renal. Na presença de doença renal, pode surgir hipercalemia, resultante de situações de oligúria ou anúria (Polzin, 2017a). A hipocaliemia pode ocorrer em 10 a 30% dos animais com DRC devido a combinações de anorexia, perda de massa muscular, vômito e poliúria (DiBartola & Westropp, 2014). A depleção de potássio pode induzir acidose metabólica, fraqueza muscular e arritmia cardíaca (Reynolds & Lefebvre, 2013). A hipocaliemia é mais comum nos estádios iniciais da DRC,

enquanto em estádios finais da doença 12-22% dos gatos podem desenvolver hipercaliemia por excreção reduzida deste eletrólito (Paepe & Daminet, 2013).

2.3.1.2.4. Hiperparatiroidismo renal secundário

O metabolismo normal do cálcio e do fósforo implica a interação de paratormona (PTH), calcitriol, e calcitonina nos rins, trato gastrointestinal e osso (DiBartola & Westropp, 2014).

O hiperparatiroidismo renal secundário é uma alteração consistente com a progressão da DRC e que se desenvolve em resposta à perda de função renal, retenção de fosfato, baixos níveis de calcitriol circulante e resistência óssea à ação da paratormona (PTH). A retenção inicial de fósforo promove a síntese de fator de crescimento de fibroblastos (FGF-23) pelos osteoclastos, responsável pela inibição indireta da absorção de fósforo no intestino, ao inibir a conversão de 25-hidroxicolecalciferol para 1,25-dihidroxicolecalciferol (calcitriol) no rim (Foster, 2016). Em estádios mais avançados, com mais de 85% dos nefrônios não funcionais, a hiperfosfatemia vai promover a ação de mecanismos de adaptação com a estimulação da síntese de PTH numa tentativa de aumentar a eliminação do fósforo. Contudo esta hormona atua nos ossos com libertação de cálcio e fósforo, contribuindo para um aumento deste eletrólito (Collins, 2018). O aumento da PTH ocorre ainda na presença de baixos valores de calcitriol, consequentes de lesões renais que afetam a sua conversão e da ação do FGF-23, referido anteriormente. O calcitriol, por sua vez, tem um papel importante na manutenção das concentrações de PTH ao inibir a síntese desta nas glândulas paratiroides (Chew et al., 2011). A elevação crónica desta hormona pode levar a osteodistrofia, supressão da medula óssea e a mineralização de tecidos moles (Foster, 2016). A hiperfosfatemia e aumento da concentração plasmática de PTH são observados respetivamente em 13-100% e 47-100% dos gatos com DRC. (Reynolds & Lefebvre, 2013).

2.3.1.2.5. Anemia

Em estádios avançados pode surgir anemia normocítica normocrómica e não regenerativa que resulta, primariamente, de produção inadequada de eritropoietina nos rins. O organismo tem, assim, dificuldades em manter as necessidades em células vermelhas que se vão perdendo, não só por tempo de vida reduzidos devido às toxinas urémicas em excesso, mas também por hemólise. Adicionalmente, carências alimentares (deficiência em ferro, vitamina B12 e folatos), hemorragias e mielofibrose podem ser fatores responsáveis pela anemia presente (Polzin, 2017a).

2.3.1.2.6. Acidose metabólica

A acidose metabólica pode estar presente na doença renal e esta dever-se, principalmente, à retenção de amoníaco (Chew et al., 2011). Numa situação normal, o rim mantém o equilíbrio do ião hidrogénio, porém com a progressão de lesões renais, a concentração desta molécula

aumenta. A capacidade adaptativa é limitada quando a TFG atinge 10 a 20% do normal. A acidose metabólica que se desenvolve não é grave, uma vez que existe um reservatório de substratos, para formação de bicarbonato, no osso (DiBartola & Westropp, 2014). Os efeitos de acidose metabólica incluem preservação de concentração de cálcio ionizado sérico e da carga de proteínas e, ainda um desvio da curva de saturação hemoglobina-oxigênio para a direita, com otimização da entrega de oxigênio nos tecidos. (Chew et al., 2011).

2.3.1.2.7. Hipoxia

A entrega de oxigênio nas células tubulares está dependente de difusão. Nos animais saudáveis existe pouca distância entre os capilares e as células epiteliais tubulares, pelo que o oxigênio é entregue de forma eficiente. Na presença de inflamação e fibrose túbulo-intersticial, a esta distância torna-se maior, contribuindo para hipoxia (Jepson, 2016). Esta por sua vez parece favorecer a formação de tecido fibroso no rim, contribuindo para a perda de parênquima renal. A ocorrência de hipoxia crônica está presente em muitos casos na DRC, sendo muitas vezes associada a stress oxidativo aumentado (Yu et al, 2017). A anemia, que ocorre em fases mais avançadas, reduz a distribuição de oxigênio e contribui para a hipoxia (Jepson, 2016).

2.3.1.2.8. Stress Oxidativo

O stress oxidativo pode surgir quando a hiperfiltração glomerular estimula a hiperfiltração nos restantes nefrônios, onde a atividade metabólica se encontra elevada e é provável a produção de ERO. Outros fatores que podem contribuir para a formação de ERO incluem proteinúria, ativação SRAA, hiperfosfatemia, inflamação, áreas de hipoxia e de isquemia e ainda toxinas urémicas (Polzin, 2017a). A produção exagerada de ERO tem influência nas vias de sinalização celular, que vão promover apoptose de células renais, senescência celular, diminuição da capacidade regenerativa e fibrose, contudo mesmo em pacientes no estadiamento 4 da IRIS, foi identificado que os mecanismos antioxidantes conseguem atuar através do aumento da atividade da GSH peroxidase plasmática (Jepson, 2016).

2.3.2. Diagnóstico

2.3.2.1. História clínica e Exame físico

A DRC é diagnosticada quando existe um aumento da concentração sérica de creatinina acima de 1,6mg/dl nos gatos e 1,4 mg/dl nos cães, por vezes acompanhada por baixas densidades urinárias (<1.035 nos gatos e <1.030 nos cães) e uma evidência destas alterações de um período superior a 3 meses, ou história clínica consistente (Sparkes et al., 2016).

A poliúria (PU) e polidipsia (PD) podem ser as primeiras alterações a serem observadas pelos tutores. Uma história prolongada de PU/PD, perda de peso devido a falta de apetite e má qualidade do pelo estão presentes em muitos dos casos (Syme & Jepson, 2017).

A PU/PD surge uma vez que a capacidade de concentração de urina e de excreção de água estão alteradas (Collins, 2018). O aumento da carga de solutos por nefrônio funcional é o fator mais importante na contribuição do defeito de concentração, dado que os nefrônios estão a funcionar em condições de osmose diurética (DiBartola & Westropp, 2014).

É descrita uma síndrome clínica denominada uremia, que não só reflete o aumento da ureia e creatinina, como manifestações clínicas e laboratoriais renais e extra-renais, estando associadas à perda substancial de nefrônios funcionais. À uremia estão associados sinais clínicos como anorexia, náusea, vômito, ulcerações orais, estomatite, necrose das margens da língua, halitose, diarreia, melena e hematoquézia (Polzin, 2017a).

Anorexia pode ser causada por mediação do apetite a nível central, na sequência de erosões ou úlceras da mucosa oral e língua e gastroenterite urémica. As lesões orais são mais comuns em cães do que em gatos e podem ser devidas a excreção de ureia para a saliva que é degradada pelas bactérias presentes na cavidade oral. O vômito é mais frequente em cães, contudo surge em cerca de 25% a 30% dos gatos urémicos (Polzin, 2017a).

Ao exame físico podem ser observadas mucosas pálidas, nos casos de anemia, e desidratação, não só como resultado da falta de ingestão de fluidos e da perda aumentada na urina, como ainda devido a perdas gastrointestinais como o vômito (Paepe, 2013). A hipertensão sistémica está presente em 20 a 30% dos cães e gatos com DRC podendo ter manifestações clínicas, como alterações oculares e anomalias hemorrágicas (dilatação do ventrículo esquerdo, hipertrofia de artérias, ritmos de galope) (DiBartola & Westropp, 2014). À palpação abdominal, os rins podem ter alterações na sua dimensão consoante a causa da doença renal. Ao contrário da insuficiência renal aguda, em que a palpação dos rins pode ser dolorosa, na DRC é habitual encontrar rins não dolorosos de dimensões inferiores, de consistência dura e contornos irregulares (Chew et al., 2011).

2.3.2.2. Análises sanguíneas

As análises sanguíneas contribui não só para o diagnóstico inicial da doença, como para o estadiamento e monitorização do paciente (Brown et al., 2016). No hemograma a presença de anemia pode ocorrer em aproximadamente 30-60% dos gatos com o avanço da DRC (Quimby, 2016). O leucograma pode estar normal, apresentar neutrofilia sem desvio à esquerda e linfopenia (leucograma de stress) ou ainda leucocitose com desvio à esquerda, nas situações de infeção. O número de plaquetas está habitualmente normal mas com a função destas alterada pelo que pode ser observada modificação da agregação e adesão plaquetária, produção de tromboplastina alterada, diminuição na retração de coagulo e diminuição da produção de tromboxano pelas plaquetas. A disfunção das plaquetas é também suposta consequência de toxinas urémicas (guanidinas, PTH) (Chew et al., 2011; DiBartola & Westropp, 2014).

Por definição, na doença renal, a ureia e a creatinina têm de estar em concentrações elevadas, e por norma, encontram-se ambas aumentadas. No decurso da DRC, em alguns gatos, o aumento da concentração sérica de creatina é acompanhado de uma normalização ou diminuição da ureia dada a anorexia ou baixa condição corporal (Sparkes et al., 2016). A acumulação de produtos azotados pode afetar o trato gastrointestinal, sistemas cardiopulmonar, metabólico e endócrino, assim como os equilíbrios hidroeletrólíticos e ácido-base (Collins 2018).

2.3.2.3. Urinálise e cultura urinária

Estes testes complementares são importantes na avaliação da capacidade de concentração, função glomerular e tubular e na presença de infeções do trato urinário, que em algumas situações podem ascender e afetar o parênquima renal e resultar em pielonefrite.

A urinálise pode revelar isostenuria, proteinuria, glicosúria e hematúria (Syme & Jepson, 2017). A isostenuria ocorre quando cerca de 67% dos nefrónios não estão funcionais, contudo, os gatos conseguem manter a capacidade de concentração de urina após azotemia especialmente quando a creatinina se encontra em valores 2-3,0 mg/dl (Chew et al., 2011).

Na análise de sedimento urinário podem ser encontrados cilindros, células sanguíneas e epiteliais e bactérias (Syme & Jepson, 2017).

A cultura de urina pode evidenciar a presença de bactérias e, mais raramente, fungos, quando a causa é pielonefrite, sendo que infeções do trato urinário são comum em gatos com DRC e podem estar presentes, mesmo com sedimento urinário inativo, especialmente nesta espécie (Chew et al., 2011; Langston, 2017).

2.3.2.4. Diagnóstico Imagiológico

O diagnóstico com recurso ao raio x é limitado, uma vez que apenas é possível ter uma noção do tamanho renal, que habitualmente se encontra diminuído, sem que este reflita as lesões renais em toda a sua extensão. O raio x também podem dar informação sobre o contorno renal, ainda assim, a ecografia seja preferível, devido à informação adicional no que diz respeito à arquitetura interna renal (Syme & Jepson, 2017).

A ecografia é considerada o meio imagiológico de eleição pois permite avaliar a geometria, arquitetura e escoamento renal. Uma hiperecogenicidade do córtex renal pode estar associada a diversas alterações, nomeadamente glomerulonefrite, pielonefrite, leptospirose, peritonite infecciosa felina, doença renal estádios finais, calcinose renal, neoplasias, entre outros. O aumento da ecogenicidade e a perda de definição entre córtex e medula são sinais não específicos, muitas vezes presentes em doença renal crónica (DiBartola & Westropp, 2014).

A diminuição do tamanho renal e a presença de formatos irregulares é compatível com DRC mas, principalmente nos gatos, podem estar presentes rins aumentados, por exemplo, na sequência de doença renal poliquística ou linfoma renal (Chew et al., 2011).

Resumidamente, é uma técnica útil, pois dá informação anatômica no que respeita ao tamanho renal, forma e arquitetura interna, contudo, uma aparência normal do órgão, não exclui a presença de doença renal significativa (Paepe, 2013).

2.3.2.5. Biópsia

A biópsia renal podem ser úteis na identificação da causa da DRC quando o paciente se encontra entre os estádios 1 a 3, contudo a presença de alterações patológicas avançadas presentes no estágio 4 impossibilitam a sua identificação (Grauer, 2010). Possíveis complicações incluem hematuria microscópica e macroscópica, hemorragia peri-renal grave, que pode necessitar de transfusão, hidronefrose secundária a obstrução da pélvis renal ou ureteres por coágulo de sangue e enfarte renal, entre outras. Contudo, a frequência de complicações severas é relativamente baixa, com valores a rondarem os 13.4% nos cães e 18,5% nos gatos. Estas complicações são mais frequentes em cães, com idade média avançada (4-7 anos e >9 anos), animais de pequena dimensão (<5kg), pacientes com azotemia grave (creatinina >5mg/dl), hipertensão não controlada, coagulopatia e anemia grave, entre outros fatores (Vaden, Levine, Lees, Groman, Grauer & Forrester, 2005; Vaden & Elliott, 2016).

Histologicamente, no gato, as lesões renais são multifocais a segmentares e incluem vários níveis de nefrite linfoplasmocítica túbulo-intersticial, hipertrofia do epitélio celular, degeneração e atrofia tubular, fibrose intersticial, mineralização da cápsula de Bowman e membrana basal tubular e esclerose glomerular, que se distribuem pelos diferentes estádios da DRC (Brown et al., 2016; Chew et al., 2011).

2.3.3. Estadiamento da Doença renal crónica

O estadiamento da DRC, definido pela IRIS (2017), surgiu com o objetivo de estabelecer *guidelines* que permitissem um melhor diagnóstico, compreensão e tratamento da doença renal em cães e gatos. Este estadiamento tem por base a concentração plasmática de creatinina (tabela 2) no paciente estável, hidratado e em jejum, e deve ser avaliada em pelo menos 2 momentos diferentes. Posteriormente, é feito o sub-estadiamento baseado na proteinúria e hipertensão (Grauer, 2015).

Tabela 2 - Estadiamento da Doença Renal Crônica consoante as concentrações de creatinina plasmática (Adaptado de IRIS, 2017).

Estádio	Creatinina (mg/dl)		
	Cão	Gato	
Em Risco	< 1,4	< 1,6	Fatores como raça, exposição a fármacos nefrotóxicos, idade e alta prevalência de doenças infecciosas na área onde vivem colocam estes animais em risco de virem a desenvolver DRC.
1	< 1,4	< 1,6	Animais não azotêmicos. Podem estar presentes alterações na capacidade de concentração urinária alterada, aumento da creatinina sanguínea em amostras seriadas, alterações à palpação ou achados imagiológicos, proteinúria de origem renal e resultados de biopsia renal alterados.
2	1,4 – 2,0	1,6 – 2,8	Ligeira azotémia renal, próxima dos valores de referência. Os pacientes podem não apresentar sinais clínicos ou estes serem considerados ligeiros.
3	2,1 – 5,0	2,9 – 5,0	Azotémia renal moderada. Podem estar presentes vários sinais clínicos extra-renais.
4	> 5,0	> 5,0	Azotémia elevada. Aumentam os riscos de sinais clínicos sistêmicos e crises urémicas

Mais recentemente, tem sido estudado o uso da SDMA como um biomarcador de função renal mais sensível. O intervalo de referência para este marcador foi estabelecido como inferior a 14µg/dL tanto em cães como em gatos (Redford et al., 2016). De forma semelhante à creatinina, a SDMA deve ser interpretada tendo em conta o estado físico e de hidratação do paciente e ainda os sinais clínicos presentes. Uma elevação persistente de SDMA acima de 14µg/dL sugere uma diminuição da função renal, e pode ser razão para considerar o estágio 1 da DRC em cães e gatos com valores de creatinina inferiores a 1,4mg/dL e 1,6mg/dL, respetivamente. Nos pacientes que sejam classificados num estágio 2 e apresentem baixos índices de condição corporal, valores de SDMA ≥ 25µg/dL podem indicar que a doença está a ser subvalorizada. O mesmo se observa para os pacientes no estágio 3, com baixa condição corporal e SDMA ≥ 45µg/dL. Os animais com concentrações *borderline* devem ser reavaliados 2 semanas após o teste inicial para confirmar o valor e posteriormente a função renal deve ser monitorizada a cada 3 meses (Grauer, 2016).

O sub-estadiamento da DRC através da proteinúria (tabela 3) deve ser utilizado quando já foram excluídas causas pré-renais e pós-renais de proteinúria. O rácio UPC deve ser medido na ausência inflamação do trato urinário ou hemorragia e que não estejam presentes

alterações dos níveis de proteína sanguínea. Idealmente, o sub-estadiamento deve ser baseado em pelo menos 2 amostras de urina colhidas num período mínimo de 2 semanas (Grauer, 2015).

Quando os valores do rácio se encontram nas classificações não proteinúrico e *borderline* proteinúrico devem ser monitorizados os valores. A proteinúria pode diminuir ao mesmo tempo que a insuficiência renal progride e, deste modo pode ser menos frequente em animais nos últimos 2 estádios. A resposta a qualquer tratamento com o intuito de reduzir a hipertensão glomerular, pressão de filtração e proteinúria devem ser monitorizados com o rácio UPC (IRIS, 2017).

Tabela 3 - Sub-estadiamento da DRC baseado na proteinúria (Adaptado de IRIS, 2017)

Rácio UPC		Classificação
Cão	Gato	
< 0,2	< 0,2	Não proteinúrico
0,2 – 0,5	0,2 – 0,4	<i>Borderline</i> proteinúrico
> 0,5	> 0,4	Proteinúrico

O sub-estadiamento pela pressão sanguínea (tabela 4) deve ser feito com múltiplas medições e idealmente os pacientes devem ser habituados a esta medição para que valores sejam mais fiáveis. A classificação final deve ter em conta vários registos, não só de um dia, mas de vários dias separados. Este estadiamento não é influenciado pela evidência de danos ou complicações no órgão alvo, mas está relacionado com o risco de o rim vir a sofrer alterações. Algumas raças têm a tendência para terem pressões sanguíneas superiores e nesses casos devem ser utilizados intervalos de referência apropriados, caso existam. Na ausência da evidência de lesões no órgão alvo, é importante a demonstração de valores persistentemente elevados.

Tabela 4 - Sub-estadiamento pela pressão sanguínea (Baseado em IRIS, 2017)

Pressão arterial sistólica (mm Hg)	Pressão arterial diastólica (mm Hg)	Nível de risco
< 150	Normotenso	Mínimo
150 – 159	<i>Borderline</i> hipertenso	Baixo
160 - 179	Hipertenso	Moderado
≥ 180	Hipertenso grave	Alto

2.3.4. Tratamento

O objetivo do tratamento passa por evitar a progressão de lesões renais e promover a recuperação celular com melhoria na entrega de oxigênio no rim, reduzir a exigência metabólica e, por fim, manter o débito urinário (Syme & Jepson, 2017). Numa fase inicial do tratamento, é fundamental tentar identificar possíveis causas reversíveis de DRC, ao mesmo tempo que são corrigidas as alterações que possam colocar em risco a sobrevivência do paciente (DiBartola & Westropp, 2014). No entanto, nenhum tratamento pode alterar as lesões já existentes (Chew et al., 2017).

2.3.4.1. Fluidoterapia

A manutenção da homeostase, com correção de alterações de fluidos, eletrólitos e do balanço ácido-base, é o objetivo principal do tratamento. Animais com DRC devem ter sempre água à disposição e deve ser delineado um plano de fluidoterapia que tenha em conta a evolução clinicado paciente (Chew et al., 2011). Em pacientes hospitalizados, a reposição de fluidos, quando necessária, deve ser administrada preferencialmente pela via intravenosa. Ainda assim, em pacientes de pequenas dimensões, a via intraóssea pode ser utilizada. Já a via subcutânea para fluidoterapia deve ser reservada para pacientes não hospitalizados, uma vez que não é possível uma administração de grandes volumes e estes podem demorar a serem reabsorvidos ou não serem reabsorvidos completamente.

As situações de desidratação devem ser corrigidas pela fluidoterapia com cristaloides, como a solução lactato de Ringer (Sparkes et al., 2016). Em pacientes com hipercaliemia é preferível introduzir uma solução isotônica sem potássio como o soro fisiológico (NaCl 0,9%) (Langston, 2017). A longo prazo deve ser encorajado o consumo de água de qualidade *ad libitum*, e se possível incluir alimentação húmida na dieta de forma a aumentar a ingestão de água (Sparkes et al., 2016).

2.3.4.2. Maneio alimentar

A introdução de uma dieta renal tem como objetivo assegurar o aporte nutricional adequado, evitar desequilíbrios eletrolíticos de cálcio e fósforo, minimizar a progressão da doença e prolongar a sobrevida (Polzin, 2017b). As dietas renais são formuladas para restringir o aporte de proteína, fósforo e de sódio e suplementadas em potássio e ácidos gordos ómega-3 (Sparkes et al., 2016)

A restrição proteica para valores tão baixos quanto 8% pode ter algumas consequências como perda de peso, hipoalbuminemia e aumento da mortalidade em cães (DiBartola & Westropp, 2014). Esta restrição não parece prevenir a hiperfiltração glomerular, nem evitar a progressão da doença renal, pelo que estão indicadas dietas com um nível moderado de proteína, altamente digestiva e de alta qualidade, pois parecem ser mais adequadas para controlar a

formação dos compostos azotados que estão associados a alguns dos sinais clínicos (Collins, 2018).

Por outro lado, a restrição de fósforo é considerada a modificação alimentar mais importante, pois tem mostrado evitar e reverter o hiperparatiroidismo renal secundário e limitar a mineralização intersticial do rim, a inflamação e a fibrose (DiBartola & Westropp, 2014; White, Malik & Norris, 2010). Assim, as lesões renais são menos graves, a TFG é mantida mais facilmente e o tempo de sobrevivência é maior (Chew et al., 2011). Quando a dieta renal não é suficiente para controlar a hiperfosfatemia, podem ser administrados, por via oral, quelantes do fósforo que vão impedir a absorção deste no intestino (Polzin, 2017a).

A suplementação das dietas com ácidos gordos ómega 3 parece reduzir a hipercolesterolemia, suprimir a inflamação, baixar a pressão sanguínea e melhorar a hemodinâmica renal. Deste modo, estes ácidos gordos são utilizados com o intuito de prevenir a deterioração e preservar a estrutura renal (Bartges, 2012).

Em pacientes que tenham ingestão inadequada de nutrientes deve ser considerada a introdução um tubo de alimentação. Estes tubos não provocam dor e facilitam a alimentação do paciente, assim como ingestão de água e medicamentos. Adicionalmente pode estar indicado o uso de estimulantes do apetite como a mirtazapina, que aumenta o apetite, a atividade e o peso corporal do paciente, e ainda tem ação antiemética (Polzin, 2017a).

2.3.4.3. Controlo do vómito

A terapia antiemética é útil no manejo da náusea e vómito decorrentes da uremia. O uso de maropitant e ondasetron está indicado tanto em cães como em gatos. Estes antieméticos atuam tanto em quimiorreceptores no centro do vómito, como no trato gastrointestinal. A administração de maropitant por via oral tem mostrado efeitos em gatos nos estádios 2 e 3 da DRC. Já o ondasetron deve ser administrado por via subcutânea, uma vez que por esta via o fármaco apresenta maior biodisponibilidade e semi-vida, quando comparado com a sua administração oral (Polzin, 2017a).

2.3.4.4. Tratamento da anemia

O uso de agentes estimulantes da eritropoiese está indicado para a correção de anemia causada por déficit de eritropoietina (EPO). Os agentes estimulantes atualmente disponíveis são a epoetina alfa, epoetina beta, darbepoetina alfa e ativadores contínuos de recetor de eritropoietina (Polzin, 2017a). Com a correção da anemia, os pacientes apresentam uma melhoria no apetite, no peso corporal e nos níveis energéticos e de sociabilidade (DiBartola & Westropp, 2014). Os agentes estimuladores da eritropoiese estão indicados para pacientes com DRC avançada (estádios 3 e 4), que apresentem hematócrito abaixo de 22% ou que apresentem sinais clínicos decorrentes da anemia. Contudo, inerente ao uso destes está o risco de formação de anticorpos anti-EPO tanto em cães como em gatos, principalmente

associado à epoetina alfa. A darbepoetina é o agente estimulante da eritropoiese mais indicado por ter um menor risco de formação de anticorpos (Polzin, 2017a).

2.3.4.5. Tratamento do hiperparatireoidismo renal secundário

Numa fase inicial de DRC a síntese de calcitriol diminui devido à inibição da 1 α -hidroxilase pela hiperfosfatemia, estando recomendada a restrição de fósforo e o uso de quelantes. Em estádios mais avançados, a insuficiente massa renal não tem capacidade para produzir quantidades adequadas, pelo que a administração de calcitriol é útil no manejo de hiperparatireoidismo renal secundário. O calcitriol vai promover a absorção intestinal de cálcio e fosfato, assim como a sua reabsorção no osso, estimular os receptores nas glândulas paratireoides e diminuir a síntese e libertação de PTH, por meio de *feedback* negativo, aumentando, por fim, a reabsorção renal de cálcio e fósforo. Só deve ser utilizado após o controlo da hiperfosfatemia (DiBartola & Westropp, 2014; Chew et al., 2011). Uma vez que aumenta a absorção intestinal de cálcio e fosfato, o calcitriol deve ser administrado em jejum de forma a reduzir o risco de hipercalcemia (Polzin, 2017a).

2.3.4.6. Tratamento da hipertensão

Em pacientes com DRC, a hipertensão está associada com o aumento da proteinúria, pelo que a diminuição da pressão sanguínea pode limitar a proteinúria (Polzin, 2017a).

O tratamento tem por objetivo reduzir a pressão sanguínea sistólica para valores abaixo dos 160mmHg e minimizar o risco de danos em órgãos alvo. A abordagem ao tratamento deve ser feita de forma gradual, sendo que a IRIS recomenda a redução do aporte de sódio na dieta, que deve ser acompanhada por terapia farmacológica (IRIS, 2016). Nos cães com DRC, o manejo inicial da hipertensão é feito com IECAs, enquanto nos gatos, existe preferência pela amlodipina, um bloqueador dos canais de cálcio, que é bem tolerada e tem efeitos secundários mínimos (Collins, 2018). A redução da pressão sanguínea deve acontecer de forma gradual de modo a evitar descidas bruscas que resultem em hipotensão (IRIS, 2016). Os pacientes em tratamento para a hipertensão devem ser monitorizados pelo menos a cada 3 meses (Polzin, 2011a).

2.3.4.7. Tratamento de suporte

Uma vez que esta é uma doença irreversível e com tendência progressiva, o tratamento é prolongado sendo importante que os tutores tenham noção desta realidade. Por vezes, é necessário a administração prolongada de fluidos, que após o período de hospitalização, é efetuada via subcutânea. Alguns tutores podem ser inseridos neste processo, através da aprendizagem da administração subcutânea de fluidos em casa, sendo particularmente conveniente em gatos e em cães pequenos (DiBartola & Westropp, 2014).

2.3.4.8. Diálise

A diálise é uma terapêutica de substituição renal, que promove uma estabilização metabólica em pacientes com uremia grave (Fischner, Pantaleo, Francey & Cowgill, 2004). Este procedimento tem sido primariamente utilizado para manejo de gatos com insuficiência renal aguda, reversível, contudo o seu uso pode ser estendido a pacientes com DRC. Nestes casos, pode ser utilizada como um método preparatório para um possível transplante renal (Roudebush, Polzin, Ross, Towell, Adam & Forrester, 2009). Contudo, as despesas e as complicações a longo prazo fazem da diálise um procedimento raramente utilizado na DRC (Chew et al., 2011).

Tem sido implementada com sucesso em cães, porém o pequeno tamanho dos gatos tem providenciado dificuldades de acesso vascular, entrega de sangue, circulação extracorporeal e estabilidade hemodinâmica (Langston, Cowgill & Spano, 1997).

Os seus efeitos benéficos são maiores quando as concentrações de creatinina plasmática e BUN excedem os 8mg/dl e 90mg/dl, respetivamente (Roudebush et al., 2009).

2.3.4.9. Transplante Renal

O transplante renal tem sido mais utilizado ao longo da última década, para felinos no estágio final da doença renal. Contudo é necessário ter em conta as implicações éticas e de bem-estar (Sparkes et al., 2016).

O transplante está recomendado quando: o tratamento convencional já não é eficaz, existe uma perda de peso inferior a 20%, não existe história recente de infeção do trato urinário, de condições médicas graves ou quando não existem infeções virais sistémicas crónicas (Roudebush, 2009).

O tempo de sobrevivência após transplante é muito variável e depende de fatores como proteinúria, presença de infeção, grau de azotemia, sensibilidade a toxinas urémicas em circulação e quando foi implementada as terapêuticas de suporte (Schmiedt et al., 2008).

2.3.5. Monitorização

A DRC deve ser monitorizada com avaliação das alterações que vão surgindo, com um exame físico completo (percentagem de alteração do peso corporal, avaliação da condição corporal e estado de hidratação), com a medição da pressão sanguínea sistólica e de exame ocular. Adicionalmente é de ter em conta os resultados da urianálise (densidade urinária, rácio UPC, tira de urina e análise de sedimento, cultura bacteriana se necessário), do hemograma, das bioquímicas (proteína, ureia, creatinina, eletrólitos, sódio, potássio, cloro, cloro, fosfato) e pela avaliação de estruturas e lesões observadas na ecografia (Sparkes et al., 2016).

A frequência da monitorização pode depender da gravidade da doença, das complicações presentes, dos tratamentos utilizados e da resposta ao mesmo (Polzin, 2017a). A satisfação

do tutor com o tratamento, assim como a capacidade económica do mesmo são fatores importantes para o plano de monitorização (Bartges,2012).

2.3.6. Prognóstico

O prognóstico vai depender da causa, da gravidade das lesões renais irreversíveis e da azotémia após a estabilização, dos níveis de proteinúria e hiperfosfatémia, da gravidade da anemia e da presença ou não lesões de carácter progressivo (Chew et al., 2011; Sparkes et al., 2016). A qualidade do cuidado médico prestado e o nível de comprometimento do tutor também têm influência no prognóstico (Polzin, 2017a). A taxa de progressão da DRC varia consoante o paciente, mas podem sobreviver meses a anos. Alguns sinais que podem indicar um mau prognóstico são: a biopsia renal com lesões extensivas, osteodistrofia avançada, proteinúria e azotémia progressivas apesar do tratamento, crescente perda muscular com ou sem perda de peso, anemia grave intratável, hipertensão sistémica não controlada e incapacidade de manter os equilíbrios hidroeletrólíticos apesar da suplementação de fluidos subcutâneos (Chew et al., 2011; DiBartola & Westropp, 2014).

III - Estudo: Efeitos da ozonoterapia no manejo da doença renal crônica em felinos

1. Objetivo

A ozonoterapia é uma terapêutica que, apesar de já ser utilizada há muitos anos na medicina humana, ainda apresenta algumas reticências quanto ao seu uso, no que diz respeito aos seus possíveis benefícios e efeitos nefastos, tanto em humanos como em animais domésticos.

Vários são os estudos experimentais com incidência da ação do ozono em lesões renais e com resultados semelhantes (Gonzalez et al., 2004; Calunga et al., 2005; Chen et al., 2008; Calunga et al., 2009; Oztosun et al., 2012; Moda et al., 2014; Xing, Chen, Wang, Weng, Chen & Li, 2015; Kal et al., 2016; Yu et al., 2017). De uma forma geral, a utilização de ozono em pacientes renais aparenta diminuir os níveis de creatinina, ureia, potássio, proteinúria e ainda as concentrações de renina e angiotensina, com aumento do fluxo sanguíneo renal e redução do dano renal (Gu, Yang, Zhu, Xu & Liu, 2010). O aumento do fluxo sanguíneo pode estar associado à prevenção da depleção de NO e melhoramento da vasodilatação que é mediada por este (Morsy, Hassan & Zalat, 2010). A decomposição do ozono, promove o aumento da atividade antioxidante, nomeadamente da SOD e catalase, que permitem a redução de lesões nos nefrônios, através da eliminação das ERO que se formam devido ao stress oxidativo decorrente da DRC (Bocci, Zanardi, Borrelli & Travagli, 2011b). A ação destes antioxidantes parece aumentar a disponibilidade de oxigénio em tecidos isquémicos ou inflamados. Os efeitos remanescentes da degradação do ozono providenciam vantagem adicional na melhoria do metabolismo local e da proliferação de tecidos, essencial à eventual recuperação da mucosa. (Calunga et al., 2009).

Uma vez que na DRC está presente um estado oxidativo no rim, a via utilizada deve ser sistémica, já que deste modo a formação de oxidantes decorrentes da administração são, na sua maioria, neutralizados pelo sistema oxidante do sangue. A concentração do ozono deve então ser a mais baixa recomendada para a técnica utilizada, sendo este valor suficiente para provocar as alterações desejadas nas células, sem que haja a acumulação excessiva de oxidantes (Bocci, 2005).

Tendo em conta estes dados e a dificuldade de manutenção da DRC em alguns pacientes, apenas com o tratamento normalmente utilizado, este estudo teve como objetivo observar se a ozonoterapia, como uma terapêutica complementar, possibilita um controlo melhorado do avanço da desta doença.

2. Material e Métodos

2.1. Participantes

Neste estudo foram selecionados felinos com DRC que tenham surgido em consulta por suspeita de agudização da doença ou que, aquando da consulta de controlo tenham

apresentado valores de creatinina acima dos valores considerados normais para o animal, numa fase estável. Devido à contraindicação do uso de ozono em pacientes com anemia, a presença desta condição foi um fator de exclusão. Nestas condições foram selecionados 4 pacientes, e aos tutores dos mesmos foi explicado todo o procedimento da ozonoterapia, os benefícios e possíveis efeitos secundários desta mesma terapêutica. Para efeitos de caracterização da amostra foram recolhidas informações sobre a raça, idade, sexo, possível causa para a doença renal e outros dados recolhidos anteriormente. Estas informações foram obtidas com recurso à plataforma de gestão de dados Qvet, utilizada pelo HVM.

2.2. Metodologia

Durante as consultas, no decorrer do período de estágio, foram recolhidos dados referentes à monitorização da DRC e alterações clínicas observadas pelos tutores. Além da anamnese e do exame físico, foram efetuadas análises laboratoriais de sangue para hemograma e painel bioquímico, assim como exames complementares de diagnóstico, entre os quais, a ecografia, urianálise e urocultura. As amostras de sangue foram obtidas por venopunção periférica ou central e transferidas para tubos de heparina com processamento laboratorial imediato dos mesmos. A recolha de urina para urianálise e urocultura foi efetuada por cistocentese ecoguiada. Os exames complementares foram efetuados *in loco* com exceção da urocultura em que as amostras foram enviadas para o laboratório CEDIVET (Centro Diagnóstico Veterinário).

Tendo em conta o objetivo do estudo, este foi dividido em monitorização anterior à ozonoterapia (intervalo A) e posterior ao início da mesma (intervalo B) e como meio de comparação foi utilizada a medição de creatinina plasmática. No intervalo A, foram utilizados dados dos pacientes registados na plataforma Qvet correspondentes a 4 medições efetuadas durante um período de 8 semanas de monitorização. Após o início da ozonoterapia, as 4 medições de creatinina foram registadas de igual forma no intervalo de 8 semanas.

2.3. Protocolo terapêutico

Este protocolo foi adaptado de modo a ter em conta, não só a disponibilidade de pessoal e tempo necessário à produção e administração do ozono, como aos custos adicionais de tratamento. Devido a escassa bibliografia em pequenos animais, teve por base a experiência pessoal de veterinários que utilizam esta técnica no dia a dia clínico.

Após a seleção dos pacientes, foi iniciada a ozonoterapia, que consistiu num protocolo de 4 sessões terapêuticas com intervalo semanal. A mistura de oxigénio-ozono foi veiculada em 250 mL de soro Lactato de Ringer, num processo com duração de 7 minutos que permitiu a produção de uma mistura oxigénio-ozono. Deste processo resultou uma concentração de ozono de aproximadamente 40 µg/ml. O soro ozonizado foi de seguida administrado aos pacientes pela via endovenosa durante 20 minutos, a uma taxa de infusão média de 30 a 40

ml/kg, consoante a condição do paciente. Após este período, a quantidade restante de soro foi administrada por via subcutânea, de modo a evitar hipervolemia. Este método foi utilizado nas 4 sessões.

Dada a influência de diversos fatores na medição plasmática da creatinina, os animais estudados continuaram com uma dieta renal, nas quantidades adequadas à constituição de cada um, e a desidratação, quando presente, tratada de forma adequada com soro não ozonizado.

2.4. Medições de creatinina

Para a monitorização da função renal foi apenas possível a medição da concentração plasmática de creatinina. Estes valores foram medidos 4 vezes (M1, M2, M3 e M4) no decurso de 8 semanas para cada intervalo, nomeadamente o intervalo A (pré-tratamento) e para o intervalo B (pós-tratamento).

Intervalo A

M1A – primeira medição e início da monitorização;

M2A – 2 semanas após a medição M1A;

M3A – 4 semanas após a medição M1A;

M4A – 8 semanas após a medição M1A.

Intervalo B

M1B – primeira medição e correspondente início da ozonoterapia.

M2B – 2 semanas após a medição M1B;

M3B – 4 semanas após a medição M1B correspondente ao fim das sessões de ozonoterapia;

M4B – 8 semanas após a medição M1B.

2.5. Análise estatística

A análise de dados foi recolhida e processada pelo Excel (Microsoft Corp. Redmond, WA, USA), e analisa através do programa informático SPSS®, para Windows, versão 25 (Statistical Package, Chicago IL, USA). Dado o tamanho da amostra foi utilizado um teste não paramétrico, o teste de Friedman (seguido do teste post hoc de Wilcoxon) para avaliar as diferenças estatísticas longitudinais entre o tratamento convencional e o tratamento com ozonoterapia. Os nível de significância foi definido como $p \leq 0.05$.

3. Resultados

De acordo com os fatores de inclusão foram estudados 4 felinos, em que 3 eram machos (75%) e apenas uma fêmea (25%). As idades variaram dos 3 aos 15 anos ($M=10,25 \pm DP=5,12$) e apenas um dos pacientes tinha uma raça definida, sendo esta a raça Persa. Relativamente à causa que desencadeou a DRC, foi possível supor a causa, em 3 dos 4

casos, tendo as infeções, a sua complicação e/ou a sua frequência, predisposto DRC em 2 dos animais. Na tabela 5 encontra-se a caracterização de forma resumida:

Tabela 5 - Caracterização do grupo estudado

Felino	Sexo	Idade	Raça	Causa DRC
1	Macho	12	Europeu Comum	Pielonefrite
2	Macho	11	Europeu Comum	Quisto renal
3	Macho	3	Europeu Comum	Pielonefrite
4	Fêmea	15	Persa	Idiopática

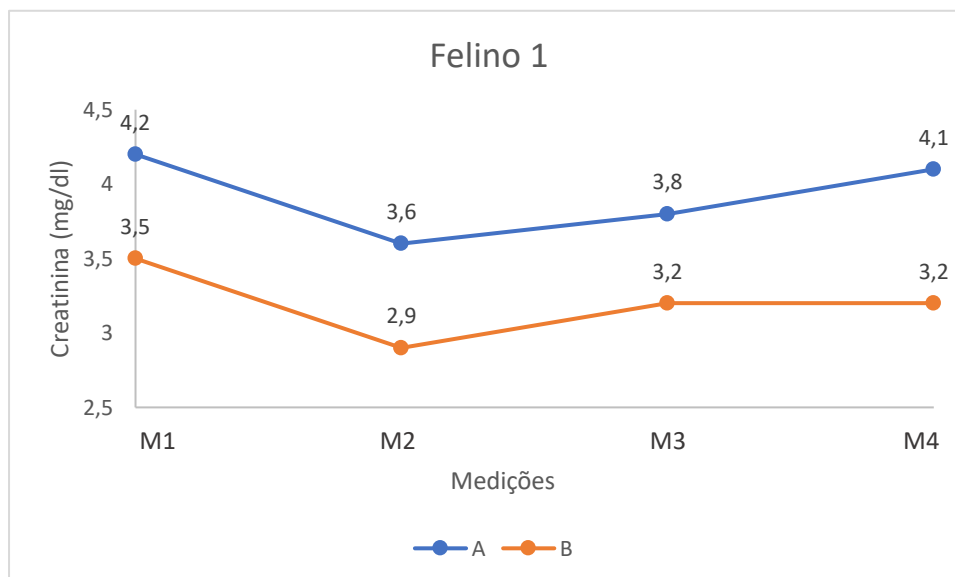
O Felino 1 era um macho, de 12 anos de idade, Europeu comum. Foi diagnosticado há 1 ano com DRC, no estágio 3, proteinúrico (rácio UPC 0,5) e normotenso, segundo o algoritmo de estadiamento da IRIS.

Após o início do tratamento apresentou sempre valores de creatinina plasmática alterados, superiores a 3,4 mg/dl. Durante a consulta de controlo, em período de estágio, surgiu com valores novamente elevados de creatinina, pelo que foi sugerida a adição de ozonoterapia ao tratamento.

No gráfico 1 é possível verificar que no intervalo A após a implementação do tratamento convencional, os valores baixaram de um valor inicial 4,2mg/dl, para 3,6mg/dl, em M2A, contudo nas medições seguintes voltou a haver um aumento, com M4A a registar um valor de 4,1mg/dl, muito próximo do valor inicial da monitorização.

Em B a concentração de creatinina baixou entre as duas primeiras medições de 3,5mg/dl para 2,9mg/dl. Em M3B, registou-se um ligeiro aumento dos valores para 3,2mg/dl, valor este que não se alterou passadas 4 semanas. Tendo em conta apenas a medição da concentração de creatinina plasmática, este paciente seria classificado num estágio 3, tanto no início como no fim da monitorização.

Gráfico 1 - Concentrações de creatinina ao longo das 8 semanas para o Felino 1

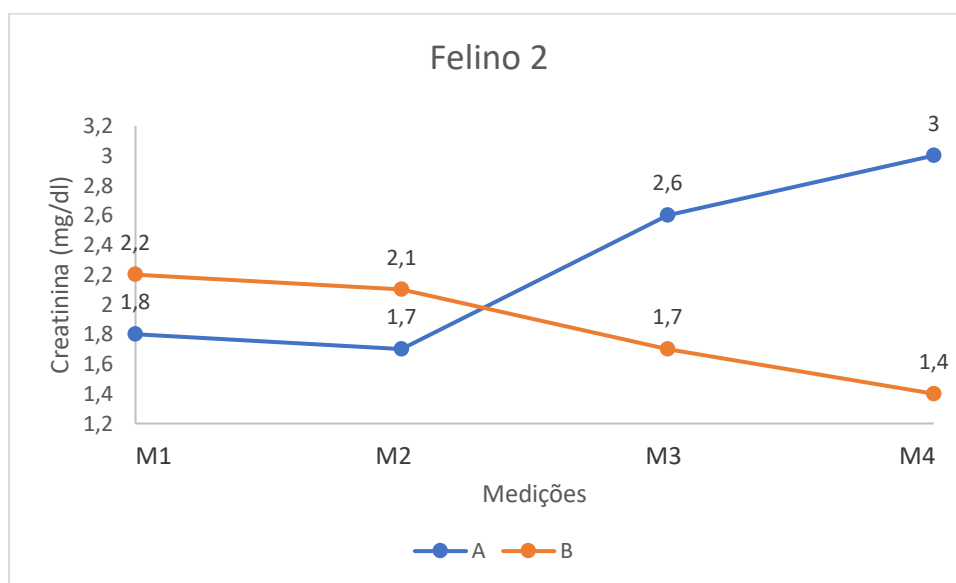


O Felino 2, um macho de 11 anos de idade, Europeu comum, foi diagnosticado há 2 anos quando a presença de disúria e hematúria desencadeou uma visita ao HVM. Foi classificado num estágio 2, não proteinúrico e hipertenso (sistólica 165mmHg). Ao longo das consultas de controlo apresentou valores relativamente constantes.

Recentemente, voltou ao hospital devido à identificação de vômitos e anorexia, pelo tutor. Aquando da segunda medição do intervalo B, ambos os sinais já não estavam presentes.

No intervalo A, entre as medições M1A e M2A os valores mantiveram-se constantes. Ao fim de um mês de reavaliação do tratamento convencional registou-se um aumento da creatinina para 2,6mg/dl e novamente em M4A para 3mg/dl. Em B, de forma semelhante ao intervalo A, houve uma manutenção das concentrações entre as duas primeiras medições. Em M3B observa-se uma diminuição de valores, para 1,7 mg/dl, que se mantém até atingir um valor mínimo de 1,4mg/dl em M4B. Neste intervalo observa-se uma alteração do estadiamento da DRC com uma passagem do estágio 3 para o estágio 2 na última monitorização.

Gráfico 2 - Concentrações de creatinina ao longo das 8 semanas para o Felino 2

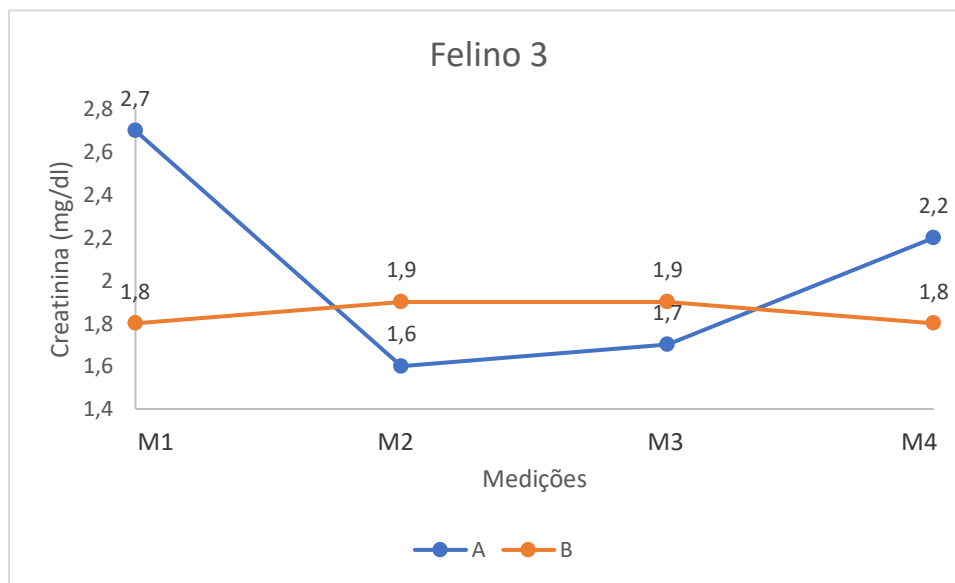


O Felino 3, macho de 3 anos de idade, Europeu comum, diagnosticado no ano passado e classificado com estando num estágio 2, não proteinúrico e normotenso. A causa de DRC foi atribuída a pielonefrite. Voltou a surgir com sinais de infeção e foi recolhida urina por cistocentese ecoguiada para urocultura, tendo sido identificado *Enterococcus* spp na amostra. Na consulta de acompanhamento, apesar de apresentar um valor de creatinina próximo do normal, continuava com sinais pelo que foi sugerida a ozonoterapia.

Através do gráfico 3 é possível verificar uma acentuada diminuição entre os valores M1A (2,7mg/dl) e M2A (1,6mg/dl) no período A. Em M3A a concentração de creatinina manteve-se constante (1,7mg/dl), tendo apenas aumentado em M4A (2,2mg/dl). Relativamente a B, os

valores mantiveram-se constantes ao longo das 8 semanas com concentrações de creatinina nos 1,8-1,9mg/dl. Tendo em conta estas medições manteve-se num estágio 2 da DRC.

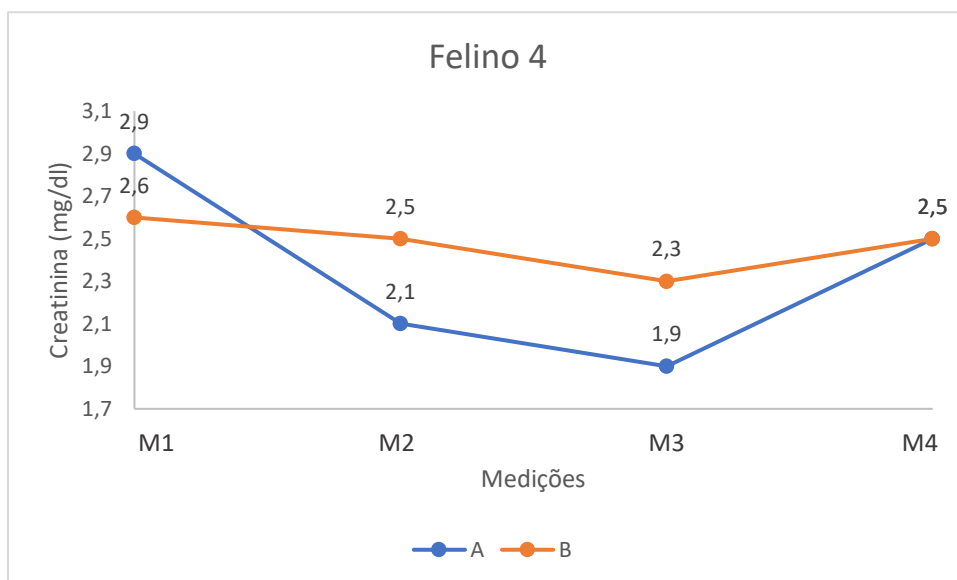
Gráfico 3 -Concentrações de creatinina ao longo das 8 semanas para o Felino 3



O Felino 4, era uma fêmea de 15 anos, de raça Persa, diagnosticada com DRC há cerca de 5 anos noutra clínica. Surgiu numa consulta com alterações urinárias e foi recolhida urina para urocultura devido a suspeita de infeção do trato urinário. O resultado foi positivo para *Enterococcus spp.* Acabou por ser classificada no estágio 2, não proteinúrico, normotenso (140mmHg). Nas últimas consultas de controlo surgiram ligeiros aumentos dos valores da creatinina e nova infeção do trato urinário, desta vez confirmada a presença de *Staphylococcus epidermidis*.

No gráfico 4, em A registou-se um valor de 2,9mg/dl na primeira medição, após o qual ocorreu uma diminuição nas concentrações de creatinina até à medição M3 (1,9mg/dl). Após este valor, verificou-se um novo aumento em M4, para 2,5mg/dl. No intervalo B houve uma manutenção relativamente constante das concentrações de creatinina plasmática. Este paciente manteve-se num estágio 2 da DRC.

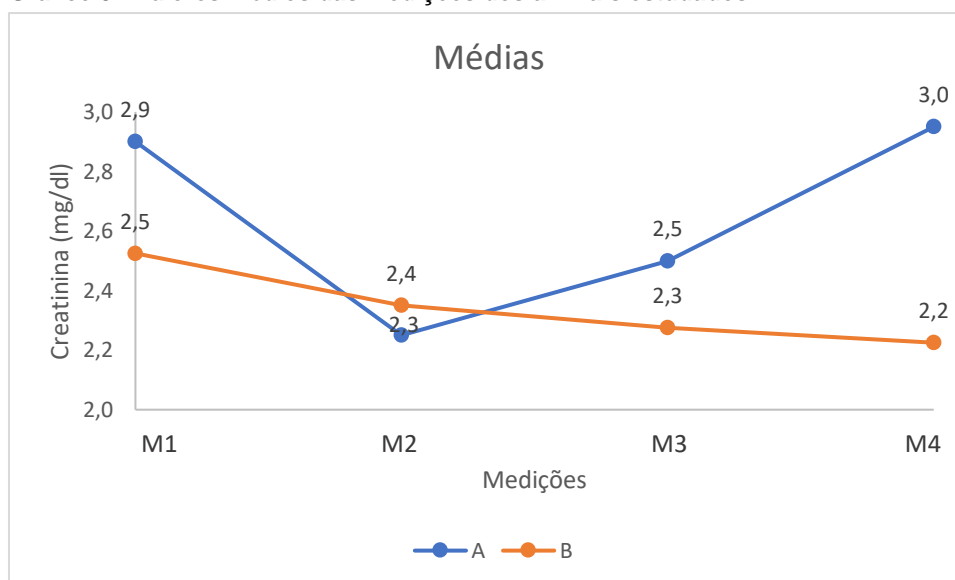
Gráfico 4 - Concentrações de creatinina ao longo das 8 semanas para o Felino 4



No gráfico 5 é possível observar os valores médios observados nos pacientes em ambos os intervalos. O teste de Friedman, ($\chi^2 = 1,000$, $p=0.317$) não revelou diferenças significativas entre o tratamento convencional e o tratamento com ozonoterapia.

No M1A, o grupo iniciou tratamento com concentrações médias de $2,9 \pm 0,99$ mg/dl e no M1B com $2,5 \pm 0,73$ mg/dl, sem diferença significativa verificada ($Z = -1.95$, $P=0.273$). Na medição M2, os intervalos A e B registaram uma diminuição para $2,3 \pm 0,93$ mg/dl e $2,4 \pm 0,44$ mg/dl, respectivamente ($Z = -0.368$, $P=0.713$). Por sua vez, na medição M3, é possível observar que o intervalo A registou um aumento de valores de creatinina plasmática ($2,5 \pm 0,95$ mg/dl), enquanto o intervalo B continuou a registrar diminuições ($2,3 \pm 0,67$ mg/dl) ($Z = -0.730$, $P=0.465$). Na última medição, as tendências continuaram com o aumento dos valores no intervalo A ($2,9 \pm 0,83$ mg/dl) e a diminuição no intervalo B ($2,2 \pm 0,79$ mg/dl) ($Z = -1.604$, $P=0.109$).

Gráfico 5 - Valores médios das medições dos animais estudados



4. Discussão

O presente estudo foi de caracter experimental, e com o intuito de observar os efeitos da introdução de soro ozonizado em pacientes renais, com as condicionantes existentes em ambiente clínico. Os resultados obtidos neste estudo não permitem afirmar que existem benefícios na introdução de ozonoterapia, como uma terapêutica complementar, uma vez que não existiram diferenças estatisticamente significativas entre os intervalos A e B (Friedman, $\chi^2 = 1,000$, $p=0,317$).

O aumento das concentrações de creatinina plasmática observado nos 4 pacientes, antes da adição da ozonoterapia, reforça a necessidade de uma monitorização constante desta doença, assim como a importância de terapêuticas mais eficazes no controlo da progressão da DRC e das suas consequentes manifestações clínicas.

A introdução da ozonoterapia, tendo em conta o protocolo e concentrações utilizadas, não permitiu observar diferenças significativas nos valores de creatinina, já que os resultados obtidos para 3 dos pacientes não permitiram a mudança da classificação do estadiamento da doença. Relativamente ao paciente 2, uma nova medição com um valor contante ao observado para a medição M4, poderia levar uma atualização da classificação do estadiamento, tendo este passado de um estágio de 3 da DRC para um estágio 2.

A implementação desta terapêutica, não acarretou efeitos secundários notórios durante o período estudado, na medida em que nenhum dos pacientes apresentou sinais de progressão da doença renal, nem pela presença de novos sinais clínicos, nem pela diminuição da função renal avaliada, neste caso pela variação da concentração de creatinina.

Tendo em conta que, em doenças de caracter crónico atuam mecanismos de stress oxidativo, a implementação de um protocolo, que poderia constituir mais um fator oxidante, pode ser visto como método arriscado em alguns casos. Contudo, a manutenção do estadiamento dos pacientes e a diminuição observada pelos valores médios durante as 8 semanas, permite constatar que, mesmo na presença de cronicidade, os mecanismos antioxidantes ainda estão ativos e capazes de debelar este desequilíbrio (Jepson, 2016).

No decurso deste estudo surgiram algumas complicações, sendo a principal o número de elementos da amostra. Idealmente, a amostra utilizada deveria ser maior, para que se obtivessem resultados mais fiáveis. Este número reduzido deveu-se a, durante o período de estágio, surgirem poucos animais que cumprissem os requisitos de seleção, nomeadamente que não apresentassem anemia. Adicionalmente, contribuíram, os custos de tratamento da doença renal e a duração do período de recuperação, que são considerados elevados para alguns tutores, que associado à adição de uma terapêutica, mesmo que económica, ainda desconhecida por muitos, criou alguma relutância no momento de decisão. Por outro lado, a botija de oxigénio utilizada para a formação de ozono não disponha de um regulador adequado, pelo que, as concentrações finais foram um valor próximo do desejado (entre 38

µg/ml a 43 µg/ml), mas não pôde ser garantido que em todas as sessões fosse utilizado o valor de 40µg/ml. Esta limitação pode ter levado a que os resultados obtidos não fossem os esperados, já que numa situação de administração de concentrações inferiores aos 40 µg/ml, o ozono pode ter sido totalmente neutralizado pelo sistema antioxidante e não ocorreram as reações esperadas pelos produtos da oxidação do ozono. Por outro lado, se algum em caso tivesse sido utilizado a concentração de 43 µg/ml, esta não deveria provocar efeitos deletérios uma vez que para esta via o valor máximo seguro é de 60 µg/ml. A utilização da creatinina para a avaliação da amostra pode ser considerado uma limitação uma vez que, é um marcador influenciado por diversos fatores, nomeadamente pela ingestão de alimento e pela condição corporal.

De modo a averiguar se a ozonoterapia contribui para a melhoria da função renal, nestas condições, seriam necessários mais estudos com uma amostra mais representativa e com um equipamento mais adequado à monitorização da concentração final de ozono na mistura administrada, assim como um marcador da função renal mais preciso. Adicionalmente, poderia ser vantajosa a reavaliação de outros parâmetros como uma nova avaliação ecográfica após o programa terapêutico e/ou novas medições de ureia, de proteinúria e pressão arterial.

5. Conclusão

Através da análise dos resultados obtidos não foi possível comprovar que estes foram influenciados pela introdução de ozonoterapia à terapêutica usualmente utilizada. Contudo, ao longo das 8 semanas, a utilização de soro ozonizado não parece ter efeitos nefastos nos pacientes.

A utilização da ozonoterapia em gatos poderá vir a ser uma mais valia no auxílio do tratamento da DRC, porém torna-se necessária a realização de novos estudos nesta espécie, de modo a ter informações adicionais sobre a melhor técnica de administração, a frequência e concentração, assim como potenciais ações e limitações da ozonoterapia nesta doença.

IV – Bibliografia

- Alves G., Abreu J., Ribeiro Filho J., Muzzi L., Oliveira H., Tannus R. & Buchanan T. (2004). Efeitos do ozônio nas lesões de reperfusão do jejuno em equinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 56, 433-437
- Andreula C., Simonetti L., de Santis F., Agati R., Ricci R. & Leonadi M. (2003). Minimally Invasive Oxygen-Ozone Therapy for Lumbar Disk Herniation. *American Journal of Neuroradiology*, 24, pp 996-1000.
- Aspinall V. & Cappello M. (2015) Urinary System. In: V. Aspinall & M. Cappello, *Introduction to Veterinary Anatomy and Physiology Textbook* (3ª Ed, pp 113-122). St. Louis: Elsevier.
- Associação Espanhola de profissionais médicos de Ozonoterapia (AEPROMO) (2010). SPOzonoterapia: Declaração de Madrid sobre Ozonoterapia. Acedido em Julho 23, 2018, em http://www.spozonoterapia.com/pdf/portuguese_declaration.pdf
- Avilés M.H. (2013). Use of ozone and ozonated growth factors in musculoskeletal disorders of the canine species. *Revista Espanola de ozonoterapia*, 3, 95-98.
- Bartges, J. W. (2012). Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 42, 669-692.
- Basile R., Rosseto L., del Rio L., Joaquim J. & Moraes P. (2017). Ozônio um fármaco multifatorial. *Revista Brasileira de Medicina Equina*, 12, pp. 10-12.
- Birben E., Sahiner U., Sackesen C., Erzurum S. & Kalyci O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *The World Allergy Organization journal*, 5, pp. 9-19.
- Bocci V., (2004). Ozone as Janus: This controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators of Inflammation*, 13, pp 3-11
- Bocci, V. (2005). *Ozone a New Medical Drug*. Netherlands: Springer.
- Bocci V. (2006). Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art. *Archives of Medical Research*, 37, 425–435
- Bocci V., Borrelli E., Travagli V., Zanardi I. (2009). The Ozone Paradox: Ozone is a Strong Oxidant as Well as a Medical Drug. *Medicinal Research Reviews*, 29; 646-682. Acedido em Fev. 21, 2018, disponível em <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/med.20150>
- Bocci V., Zanardi I., Travagli V. (2011a). Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Medical Gas Research*. Acedido em Abril 30, 2018, disponível em <https://medicalgasresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/2045-9912-1-6>
- Bocci V., Zanardi I., Borrelli E. & Travagli V., (2011b). Reliable and effective oxygen-ozone therapy at a crossroads with ozonated saline infusion and ozone rectal insufflation, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Volume 64, 482-489
- Borrelli E. & Bocci V. (2010). Basic Biological and Therapeutic Effects of Ozone Therapy in Human Medicine, *Ozone Science and Technology*. Acedido em Junho 4, 2018, disponível em <https://www.eolss.net/Eolss-Publications.aspx>

- Borrelli E. & Bocci V. (2018). The Use of Ozone in Medicine. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 8, 117-119
- Brown C. A., Elliott J., Schmiedt C. W. & Brown S. A. (2016). Chronic Kidney Disease in Aged Cats: Clinical Features, Morphology, and Proposed Pathogeneses. *Veterinary Pathology*, 53, 309-326
- Brown, S.A. (2013). Renal dysfunction in small animals. *The MSD Veterinary Manual*. Acedido em Fevereiro, 22, 2019, disponível em <https://www.merckvetmanual.com/urinary-system/noninfectious-diseases-of-the-urinary-system-in-small-animals/renal-dysfunction-in-small-animals>
- Brown, S. (2011). Physiology of the kidneys. In J. Bartges & D. J. Polzin, *Nephrology and Urology of Small Animals*. (pp. 10-17). Chichester: Wiley-Blackwell
- Burgassi S., Zanardi I., Travagli V., Montomoli E., Bocci V. (2008). How much ozone bactericidal activity is compromised by plasma components? *Journal of Applied Microbiology*, 106, 15-21.
- Calunga J.L., Zamora Z.B., Borrego A., del Río S., Barber E., Menéndez S., Hernández F., Montero T. & Taboada D. (2005). Ozone Therapy on Rats Submitted to Subtotal Nephrectomy: Role of Antioxidant System. *Mediators of Inflammation*, 4, 221-227.
- Calunga J.L. Trujill Y., Menéndez S., Zamora Z., Alonso Y., Merino N. & Monero T. (2009). Ozono oxidative post-conditioning in acute renal failure. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61, 221-227.
- Cakir, R. (2014). General Aspects of Ozone Therapy In F. Atroshi, *Pharmacology and Nutritional Intervention in the Treatment of Disease* (159-173). Croatia: IntechOpen.
- Chen H., Xing B., Liu X., Zhan B., Zhou J., Zhu H. & Chen Z. (2008). Ozone Oxidative Preconditioning Protects the Rat Kidney from Reperfusion Injury: The Role of Nitric Oxide. *Journal of Surgical Research*, 149, 287-295.
- Chew, D.J., DiBartola, S. P. & Schenck, P. A. (2011). Chronic renal failure. In D. J. Chew, S. P. DiBartola & P. A. Schenck, *Canine and Feline Nephrology and Urology*. (2ªed., 145-196). St Louis, MO: Elsevier Saunders.
- Clarkson, C. E. & Fletcher, T. F. (2011). Anatomy of the kidney and proximal ureter In J. Bartges & D. J. Polzin, *Nephrology and Urology of Small Animals*. (pp. 3-9). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Collins S. (2018). All about the kidneys: renal physiology. *Feline Focus*, 4 (nº 7), 199-202.
- DiBartola S. & Westropp J. (2014). Urinary Tract Disorders. In R. W. Nelson & C. G. Couto, *Small Animal Internal Medicine* (5ª ed., 41-48). St. Louis, MO: Elsevier Mosby.
- Di Maio L., Urruchi W. & Rodríguez Z. (2009). Utilidad potencial de la Ozonoterapia en la Medicina Veterinaria, *Revista Electrónica de Veterinaria*. Acedido Junho 14, 2018, disponível em <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101009.html>
- Ekici S., Ekici A., Luleci N. (2015). Ozone Therapy in Urology, *Yeditepe Medical Journal*, 10, pp. 903-906.
- Elliott, J. (2015). FGF-23: a new player in the regulation of phosphate. Acedido em Fevereiro, 22, 2019, de International Renal Interest Society (IRIS), disponível em <http://www.iris->

- Elvis A. M., Ekta J. S. (2011). Ozone Therapy: A clinical review. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 2, pp 66-70.
- Fischner J.R., Pantaleo V., Francey T. & Cowgill L.D. (2004). Veterinary hemodialysis: advances in management and technology. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 34, 935-967.
- Foster J. (2016). Update on Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 46, 1131-1149
- Ghys L.F.E., Paepe D., Lefebvre H.P., Reynolds B.S., Croubels S., Meyer E., Delanghe J.R, & Daminet S. (2016). Evaluation of Cystatin C for the Detection of Chronic Kidney Disease in Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30, pp. 1074-1082.
- González R., Borrego A., Zamora Z., Romay C., Hernández F., Menéndez S., Montero T. & Rojas E. (2004). Reversion by ozone treatment of acute nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. *Mediators of Inflammation*, 13, pp. 307-312.
- Grauer, G. F. (2015). Feline Chronic Kidney Disease. *Today's Veterinary Practice*, 5, 36-41.
- Grauer, G. F. (2016) Early Diagnosis of Chronic Kidney Disease in Dogs & Cats: Use of Serum Creatinine & Symmetric Dimethylarginine. *Today's Veterinary Practice*, 6, 68-72.
- Gu X., Yang X., Zhu H., Xu Y. & Liu X. (2010). Effect of medical ozone therapy on renal blood flow and renal function of patients with chronic severe hepatitis. *Chinese Medical Journal*, 123 (nº18), 2510-2513.
- Guanche D., Zamora Z., Hernández F., Mena K., Alonso Y., Roda M., Gonzáles M. & Gonzales R. (2010). Effect of ozone/oxygen mixture on systemic oxidative stress and organic damage. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 20 (nº1), 25-30.
- Guerra-Branco P., Poznyak T., Pérez A., Gómez y Gómez Y.M., Bautista-Ramirez M.E. & Chairez I. (2017). Ozonation Degree of Vegetable Oils as the Factor of Their Anti-Inflammatory and Wound-Healing Effectiveness, *Ozone: Science & Engineering*, 39, 374- 384;
- Haddad M.A., Souza M.V., Hincapie J.J., Ribeiro Junior J.I., Ribeiro Filho J.D. & Benjamin L.A. (2009). Comportamento de componentes bioquímicos do sangue em equinos submetidos à ozonoterapia, *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61, 539-546;
- Hall J.A., Yerramilli M., Obare E., Yerramilli M. & Jewell D.E. (2014). Comparison of Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine as Kidney Function Biomarkers in Cats with Chronic Kidney Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28, 1676-1683;
- Hall J.A., Yerramilli M., Obare E., Yerramilli M, K. Almes. & Jewell D.E. (2016). Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine in Dogs with Naturally Occurring Chronic Kidney Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30, 794-804;
- Hokamp, J. A. & Nabity, M. B. (2016). Renal biomarkers in domestic species. *Veterinary Clinical Pathology*, 45 (nº1), 28-56
- IRIS. (2016). Treatment Recommendations for CKD in Cats. Acedido em Julho, 3, 2018, de

IRIS (International Renal Interest Society), disponível em http://www.iriskidney.com/pdf/002-5559-001-iris-website-treatment-recommendation-pdfscats_070116-final.pdf

IRIS. (2017). IRIS Staging of CKD (modified 2017). Acedido em Julho 2, 2018, de (International Renal Interest Society), disponível em http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2017_Staging_of_CKD_09May18.pdf

Jepson, R. E. (2016). Current understanding of the pathogenesis of progressive chronic kidney disease in cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46, 1015-1048;

Joaquim, J.G.F. (2018). Ozonioterapia em Reabilitação Animal. In J. Hummel & G. Vicente, *Tratado de Fisioterapia e Fisiatria de Pequenos Animais* (129-135). São Paulo: Paya

Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2008). Aparelho urinário. In L. C. Junqueira & J. Carneiro, *Histologia Básica*. (11ª ed., 371-388). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A.;

Kal O., Akillioglu I., Kal A., Celik E., Yilmaz M., Onal M. & Onal O. (2016). Prophylactic ozone administration reduces renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 9 (nº7), 13677-13688

Lapoli, F. R., Santos, L. F. dos, Hassemer, M. E. N., Aisse, M. M., & Piveli, R. P. (2003). Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. In *Desinfecção de Efluentes Sanitários*. Rio de Janeiro: ABES.

Langston C.E., Cowgill L.D. & Spano J.A (1997). Applications and Outcome of Hemodialysis in Cats: A Review of 29 Cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 11, 348-355;

Langston C. (2017). Managing Fluid and Electrolyte Disorders in Kidney Disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47, 471-490;

Léon O.S., Menéndez S., Merino N., Castillo R., Sam S., Pérez L., Cruz E. & Bocci V. (1998). Ozone oxidative preconditioning: protection against cellular damage by free radicals. *Mediators of Inflammation*, 7, 289-294;

Moda T.F., Lima C.J., Fernandes A.B., Zângaro R.A & Moreira L.H. (2014). Efeitos da ozonização intra-abdominal e intra-retal sobre a avaliação renal de cães acometidos por Leishmaniose Visceral. In. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica -CBEB 2014 (1900-1903), Uberlândia.

Madej P., Plewka A., Madej J.A., Nowark M., Plewka D., Franik G. & Golka D. (2007). Ozonotherapy in an induced Septic Shock. I. Effect of Ozonotherapy on Rat Organs in Evaluation of Free Radica Reactions and Selected Enzymatic Systems, Inflammation. Acedido em Junho 7, 2018, disponível em <https://doi.org/10.1007/s10753-007-9021-7>;

Moreira L.H., Figueiredo T.F.B., Alves L.P., Fernandes A.B., Zângaro R.A. Mendes A., Gaudêncio F.N. & Lima C.J. (2018). Effect of Ozone as Acaricide: Action of the Ozone on the Cuticle and Respiratory Spiracle of Tick *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* in Ozone: Science & Engineering. Acedido em Junho, 13, 2018, disponível em <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1403306>;

Morette D.A. (2011) Principais Aplicações Terapêuticas da Ozonioterapia. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Júlio de Mesquita Filho.

- Morsy M.D., Hassan W.N. & Zalat S.I. (2010). Improvement of Renal oxidative stress markers after ozone administration in diabetic nephropathy in rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. Acedido em Julho, 28, 2018, disponível em <https://dmsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1758-5996-2-29>
- Muto M., Andreula C. & Leonardi M. (2004). Treatment of Herniated Lumbar Disc by Intradiscal and Intraforaminal Oxygen-Ozone (O₂-O₃) Injection. *Journal of Neuroradiology*, 31, 183-189
- Ogata A. & Nagahata H. (2000). Intramammary Application of Ozone Therapy to Acute Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62, 681-686.
- Oztosun M., Akgul E.O., Cayci T., Uysal B., Ogur R., Ozcan A., Ozgurtas T., Guven A. & Korkmaz A. (2012). The Effects of Medical Ozono Therapy on Renal Ischemia/Reperfusion Injury. *Renal Failure*, 34 (nº7), 921-925.
- Paepe D. & Daminet S. (2013). Diagnosis, staging and screening – ehat is recommended?. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15, 15-27
- Pereira M.T.C. & Garcia C.A. (2006). Eficácia da ozonioterapia no tratamento de mastite subclínica de vacas em lactação. *Veterinária Notícias*, 12 (nº2), 109-115.
- Polzin D. J. (2017a). Chronic Kidney Disease. In S. J. Ettinger, E.C. Feldman & Côté E., *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. (8ªed., pp. 4693-4727). St. Louis, MO: Elsevier Saunders.
- Polzin D. J. (2017b). Chronic Kidney Disease: Pathophysiology, Progression and Interventions. Comunicação apresentada na 2017 Hill's Global Symposium, Washington D.C.
- Pressler B.M. (2013). Clinical Approach to Advanced Renal Function Testing in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 43, 1193-1208.
- Quimby J.M. (2015). Searching for biomarkers in feline chronic kidney disease: A new frontier. *The Veterinary Journal*, 206 (nº1), 3-4.
- Quimby J.M. (2016). Update on Medical Management of Clinical Manifestations of Chronic Kidney Disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46, 1163-1181
- Relford, R., Robertson, J. & Clements, C. (2016). Symmetric dimethylarginine: Improving the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney disease in Small Animals, *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46, 941-960.
- Reynolds, B. S. & Lefebvre, H. P. (2013). Feline CKD: Pathophysiology and risk factors - what do we know? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15, 3-14.
- Rodrigues K.L., Cardoso C.C., Caputo L.R., Carvalho J.C.T., Fiorini J.E. & Schneedorf J.M (2004). Cicatrizing and Antimicrobial Properties of an Ozonised Oil from Sunflower Seeds in Inflammapharmacology. Acedido em Junho, 4, 2018, disponível em <https://link.springer.com/article/10.1163%2F1568560042342275>;
- Rodriguez Z.Z., Legrá E.P., Mirabal J.M & González X.V. (2007). Oleozon como tratamento de la dermatomicosis del conejo in *Revista Electrónica de Veterinaria*. Acedido em Junho, 18, 2018, disponível em <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030307/030704.pdf>;

- Roundebush P., Polzin D.J., Ross S.J., Towell T.L., Adam L.G. & Forrester S.D. (2009). Therapies for Feline Chronic Kidney Disease. What is the Evidence? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 195-210.
- Roura, X. (2016). Risk factors in dogs and cat for development of chronic kidney disease. Acedido em Fevereiro, 22, 2019, de IRIS (international Renal Interest Society), disponível em http://www.iris-kidney.com/education/risk_factors.html
- Sagai M., Bocci V. (2011). Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? *Medical Gas Research*. Acedido em Junho 6, 2018, disponível em <https://medicalgasresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/2045-9912-1-29>;
- Schmiedt C.W., Holzman G., Schwarz T. & McAnulty J.F. (2008). Survival, complications, and analysis of risk factors after renal transplantation in cats. *Veterinary Surgery*, 37 (nº7), 683-695.
- Schwartz, A.; Martínez-Sánchez, G. (2012). Ozone therapy and its Scientific Foundations, *Revista Espanola de Ozonoterapia*. Vol. 2, 199-232.
- Smith A.J., Oertle J., Warren D. & Prato D. (2015). Ozone Therapy: A Clinical Physiological and Diverse Clinical Evaluation with Regard to Immune Modulation, Anti-Infectious Properties, Anti-Cancer Potential, and Impact on Anti-Oxidant Enzymes. *Open Journal of Molecular and Integrative Physiology*. Acedido em Abril, 30, 2018, disponível em <https://www.researchgate.net/publication/285216860>
- Smith NL, Wilson AL, Gandhi J, Vatsia S, Khan SA (2017). Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility, *Medical Gas Research*, Vol. 3, nº 10, 212-219.
- Sparkes, A. H., Caney, S., Chalhoub, S., Elliott, J., Finch, N., Gajanayake, I., Langston, C., Lefebvre, H. P., White, J. & Quimby, J. (2016). ISFM consensus guidelines on the diagnosis and management of feline chronic kidney disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18, 219-239.
- Sociedade Portuguesa de Ozonoterapia (2015). *SPozonoterapia: Aplicações Clínicas*.. Acedido em Março, 20, 2018, disponível em http://spozonoterapia.pt/?page_id=89
- Syme H.M. & Jepson R. (2017). Clinical Approach and Laboratory Evaluation of Renal Disease. In S. J. Ettinger, E.C. Feldman & Côté E., *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. (8ªed., pp. 4603-4634). St. Louis, MO: Elsevier Saunders.
- Vaden S.L. & Elliott J. (2016). Management of Proteinuria in Dogs and Cats with Chronic Kidney Disease, *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46, 1115-1130.
- Vaden S.L., Levine J.F., Lees G.E., Groman R.P., Grauer G.F. & Forrester S.D (2005). Renal Biopsy: A Retrospective Study of Methods and Complications in 283 Dogs and 65 Cats, *Journal of Veterinary Medicine*, 19, 794-801.
- Van Hoof H.J.M., Zijlstra F.J., Voss H-P., Garrelds I.M., Dormans J.A.M.A., van Bree L. & Bast A. (1997). The effect of ozone exposure on the release of eicosanoids in guinea-pig BAL fluid in relation to cellular damage and inflammation. *Mediators of Inflammation*, 6, 355-361.

- Verlander, J. W. (2013). Renal Physiology In J. G. Cunningham, B. G. Klein, Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology. (5^aed., pp. 460- 494). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Von Hendy-Willson V.E. & Pressler B.M. (2011). An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. Veterinary Journal, 188 (nº2). 156-165.
- Volkhovskaya N.B., Kolesova O.E. & Tkachenko S.B. (2008). Redox Status of Rats during Treatment by Ozonated Saline According to Different Protocols. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 145 (nº2), 141-143.
- White J.D., Malik R. & Norris J.M. (2011). Feline chronic kidney disease: Can we move from treatment to prevention?. The Veterinary Journal, 190, 317-322.
- Xing B., Chen H., Wang L., Weng X., Chen Z. & Li X. (2015). Ozone oxidative preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury via modulation of the TLR4-NF- κ B pathway. Acta Cirurgica Brasileira, 30 (nº1), 60-66.
- Yu G., Bai Z., Chen Z., Chen H., Wang G., Wang G & Liu Z. (2017). The NLRP3 inflammasome is a potential target of ozone therapy aiming to ease chronic renal inflammation in chronic kidney disease. International Immunopharmacology, 43, 203-209.